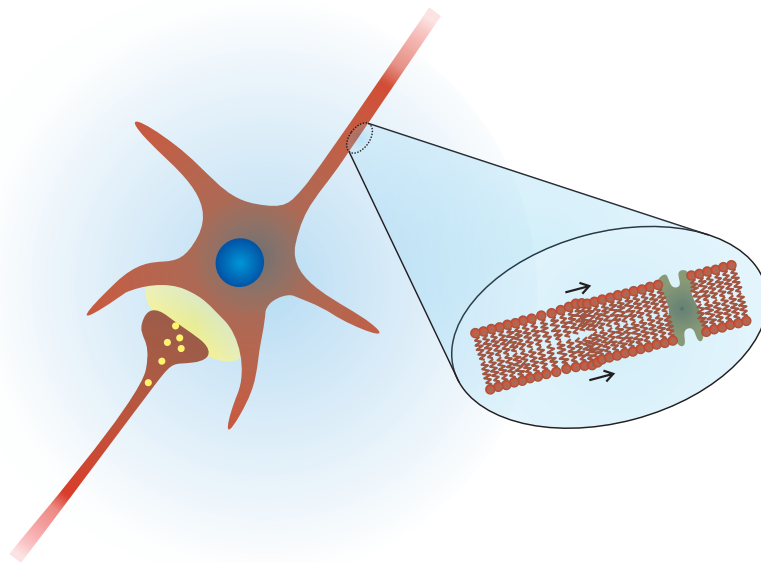


Akustik und Dynamik von Lipid-Monolayern im Licht der Nervenreizleitung

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Augsburg
vorgelegt von

JOSEF GRIESBAUER



Lehrstuhl für Experimentalphysik I
Institut für Physik
Universität Augsburg
Mai 2011

Erster Gutachter:	Prof. Achim Wixforth
Zweiter Gutachter:	Prof. Alfred Blume
Dritter Gutachter:	Prof. Roland Netz

Tag der Einreichung:	24. Mai 2011
Tag der mündlichen Prüfung:	13. Juli 2011

Inhaltsverzeichnis

Kurzzusammenfassung	1
1. Einleitung	2
2. Lipidmembranen. Einführung in Theorie und Experiment	6
2.1. Lipidstruktur	6
2.2. Lipidmembranen	7
2.3. Thermodynamische Beschreibung von Lipidmembranen	9
2.4. Untersuchung von Monolayern mit Hilfe der Filmwaagentechnik . . .	11
2.4.1. Grundlagen und Prinzip der Filmwaagentechnik	11
2.4.2. Isothermen und Phasen von Monolayern	13
2.4.3. Oberflächenpotentialmessung von Monolayern	16
2.5. Der Monolayer als Modell für Bilayer	18
3. Dynamische Monte Carlo Simulation von Lipidmembranen	20
3.1. Monte Carlo Simulationen	20
3.2. Zwei-Zustands-Modell für Lipidmembranen	21
3.2.1. Modell und thermodynamisches Potential	21
3.2.2. Glauber-Algorithmus und Simulations-Zyklus	23
3.2.3. Thermodynamische Größen und Bestimmung von Parametern	24
3.3. Dynamische Erweiterung des Zwei-Zustands-Modells	26
3.3.1. Einführung des Oberflächendrucks durch Federn	26
3.3.2. Erweiterung des Simulations-Zyklus	29
3.3.3. Implementierung des Modells als Computer-Programm	30
3.3.4. Implementierung von Monolayer-Isothermen	32
3.4. Parameterbestimmung	33
3.4.1. Lipidparameter für DPPC	33
3.4.2. Zeitäquivalent	35
3.5. Einfluss von Laufzeit und Gittergröße	37
3.6. Simulation von DPPC-Monolayer-Isothermen	38
3.6.1. Isothermen-Kurven	39
3.6.2. Domänenbildung während des Phasenübergangs	40
3.6.3. Proportionalität von Wärmekapazität und Kompressibilität . .	41

3.7.	Simulation eines dynamischen experimentellen Systems	43
3.7.1.	Beeinflussung von Lipid-Bilayern durch Oberflächenwellen . .	43
3.7.2.	Simulations-Zyklus und Parameterbestimmung einer Lipidmi- schung DMPC/DSPC	44
3.7.3.	Durchführung und Ergebnis der Simulation	46
3.8.	Zusammenfassung	48
4.	Elektrische Anregung von Lipid-Monolayern	50
4.1.	Theorie zur Akustik in Lipid-Monolayern	50
4.2.	Versuchsaufbau zur elektrischen Anregung	52
4.2.1.	Anregungsprinzip und Anregungschips	52
4.2.2.	Filmwaagenaufbau und Versuchsdurchführung	55
4.3.	Experimente zur elektrischen Anregung	56
4.3.1.	Erwartungen für den Oberflächendruck der Monolayer auf Grund akustischer Wellenphänomene	56
4.3.2.	Erste Ergebnisse für Oberflächendruck-Frequenz-Spektren . .	59
4.3.3.	Bestimmung und Diskussion der adiabatischen Kompressibilität	61
4.3.4.	Wellengeschwindigkeiten ermittelt aus Spektren und der adia- batischen Kompressibilität	63
4.3.5.	Entkopplung des Wellenphänomens von der Wassersubphase und dessen Dämpfung	64
4.3.6.	Interpretation und Diskussion des beobachteten Wellenphäno- mens	67
4.4.	Zusammenfassung	69
5.	Natürliche Anregung von Lipid-Monolayern	71
5.1.	Theorie zur Akustik von Lipid-Monolayern auf viskosen Subphasen .	71
5.1.1.	Theoretische Beschreibung	71
5.1.2.	Hochfrequenter Grenzfall	74
5.1.3.	Niederfrequenter Grenzfall	75
5.2.	Versuchsaufbau zur natürlichen Anregung	76
5.2.1.	Anregungsprinzip	77
5.2.2.	Filmwaagenaufbau und Versuchsdurchführung	79
5.3.	Anregung mit Lösungsmitteln: Ethanol, Methanol, Pentan und Chlo- roform	82
5.3.1.	Pulsformen	82
5.3.2.	Pulshöhen	86
5.3.3.	Ausbreitungsgeschwindigkeiten	88
5.3.4.	Relaxationszeiten	91
5.3.5.	Rückschlüsse auf die adiabatische Kompressibilität	92

5.4.	Anregung mit Salzsäure	94
5.4.1.	Isothermen und Pulsformen	94
5.4.2.	Anregbarkeit und pH-Abhängigkeit	97
5.4.3.	Pulshöhen und Ausbreitungsgeschwindigkeiten	98
5.5.	Anregung mit Essigsäure	100
5.5.1.	Isothermen und Pulsformen	101
5.5.2.	Anregbarkeit und pH-Abhängigkeit	104
5.5.3.	Pulshöhen und Ausbreitungsgeschwindigkeiten	106
5.5.4.	Oberflächenpotential und dessen Kopplung an den Oberflächen- chendruck	107
5.6.	Anregung natürlicher Lipidsysteme	110
5.6.1.	Isothermen und Pulsformen in Potential und Druck	110
5.6.2.	pH-Abhängigkeit	113
5.6.3.	Pulshöhen und Ausbreitungsgeschwindigkeiten	114
5.7.	Zusammenfassung	115
6.	Wellenphänomene zur Beschreibung der Nervenreizleitung	118
6.1.	Parallelen der Essigsäureanregung zu den Vorgängen im synaptischen Spalt	119
6.2.	Theorie der Wellenausbreitung auf Membranen im Sinne der Nerven- reizleitung	120
6.3.	Die Theorie nach Hodgkin und Huxley	122
6.4.	Modifikation der Theorie nach Hodgkin und Huxley	125
6.5.	Vereinigung der Modifikation mit der Wellenausbreitung auf Mem- branen	127
7.	Zusammenfassung und Ausblick	130
7.1.	Dynamische Monte Carlo Simulation von Lipid-Monolayern	130
7.2.	Elektrische Anregung von Lipid-Monolayern	131
7.3.	Natürliche Anregung von Lipid-Monolayern	132
7.4.	Schlußfolgerungen für Wellenphänomene im Bezug zur Nervenreizlei- tung	133
A.	Thermodynamische Beziehungen und Herleitung	135
A.1.	Adiabatische Kompressibilität	135
A.2.	Thermodynamische Kopplung von Membraneigenschaften	135
A.3.	Oberflächenspannungsmessung mit einer Kelvinsonde	138
A.4.	Bestimmung der Gibbs freien Energie für das einfache Simulations- Modell	138

A.5. Berechnung der Ableitung des statistischen Mittelwertes der freien Enthalpie H	140
A.6. Berechnung der Federhärten aus den Kompressibilitäten	140
A.7. Berechnung der Lipidflächen aus den Lipidpositionen	141
A.8. Bedingung für Totalreflexion einer akustischen Welle an einer Grenzfläche	142
A.9. Temperaturverteilung in der Subphase durch eine akustische Monolayer-Welle	143
A.10. Verknüpfung von Kompressibilität und Relaxationszeiten	144
B. Methodische und anderweitige Details	145
B.1. Herstellung von Lipidproben, Lösungen und Säuren	145
B.1.1. Lipidproben und Lösungen	145
B.1.2. Säuren und Lösungsmittel	146
B.1.3. Ringerlösung	147
B.2. Typischer Vorgang eines Filmwaagen-Experiments	148
B.3. Energieproduktion durch diskrete Zeitschritte	150
B.4. Auszüge aus dem Programm Quellcode zur Simulation	151
B.5. Zusammenfassung der Anregungsschipherstellung	154
B.6. Programm Quellcode zur Druckveränderungsberechnung in SciLab . .	155
B.7. Referenzmessungen zur natürlichen Anregung	157
B.8. Anregung von Schweinehirnlipiden auf Ringerlösung bei $37^{\circ}C$	160
Referenzen	163
Danksagung	172
Lebenslauf	174

Kurzzusammenfassung

In lebenden Systemen sind Lipidmembranen (Lipid-Bilayer) ubiquitär, so dass ihre Dynamik eine entscheidende Rolle für natürliche Prozesse und das Leben selbst spielt. Ein augenscheinliches Beispiel für einen solchen dynamischen Prozess ist die Nervenreizleitung. Im Gegensatz zu deren anerkannten Beschreibung in der elektrischen Theorie nach Hodgkin und Huxley, soll die alternative Betrachtung von Nervenreizen als akustische Wellen/Pulse auf Lipidmembranen, das zentrale Thema dieser Arbeit darstellen. Dazu wird das Modell des Lipid-Monolayers für die theoretischen oder experimentellen Untersuchungen gewählt, da es hervorragenden Zugang zu den elastischen Eigenschaften von Lipidmembranen gibt und dabei experimentell einfach umzusetzen ist.

Die Entwicklung einer dynamischen Monte-Carlo-Simulation für Lipid-Monolayer liefert zunächst Ergebnisse, die eine Brücke zwischen der mikroskopischen Vorstellung zu den makroskopischen Messungen, der betrachteten statischen und dynamischen Experimente, schlagen. Den Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit stellt aber die experimentelle Untersuchung von Wellenphänomenen auf Lipid-Monolayern dar. So wird gezeigt, dass Monolayer auf elektrischem Weg zu hochfrequenten Wellenphänomenen ($\approx 10\text{MHz}$) angeregt werden können, deren Verhalten dem von rein akustischen Wellen mit Ausbreitungsgeschwindigkeiten von $\approx 100\frac{\text{m}}{\text{s}}$ gleichkommt. Die Anregung von niederfrequenten ($\approx 1\text{Hz}$) Druckpulsen wird schließlich auf chemischem Weg durch das Aufbringen verschiedener Substanzen auf die Monolayer erreicht. Durch die direkte, zeitaufgelöste Messung dieser Pulse wird gezeigt, dass sie Ausbreitungsgeschwindigkeiten von $\approx 1\frac{\text{m}}{\text{s}}$ besitzen und sowohl mechanische als auch elektrische Signale auf den Monolayern erzeugen.

Die in dieser Arbeit vorgestellten, experimentellen Ergebnisse unterstützen die Vorstellung von Wellen entlang von Nervenfasern als Bild für die Nervenreizleitung (Nervenreizleitungsgeschwindigkeiten $\approx 0.1 - 100\frac{\text{m}}{\text{s}}$). Auf Grundlage dieser Idee wird zuletzt eine einfache Wellentheorie der Nervenreizleitung vorgeschlagen, die die elektrische Theorie nach Hodgkin und Huxley in vereinfachter Form beinhaltet. Dabei gibt die Wellenvorstellung in dieser Theorie Zugang zur mechanischen, thermischen *und* elektrischen Phänomenologie der Nervenreizleitung.

Kapitel 1: Einleitung

1878 riet Philip von Jolly seinem Studenten Max Planck vom Physik Studium ab, „weil diese Wissenschaft seit der Entdeckung des Energieprinzips im wesentlichen abgeschlossen sei und nicht mehr viel Neues erwarten ließe“ [1]. Diese um 1900 in allen wissenschaftlichen Bereichen verbreitete Meinung hat sich sehr schnell als nicht haltbar herausgestellt. Die darauf folgenden Jahrzehnte mit ihren damals revolutionären Ideen, wie die Quantenmechanik oder Relativitätstheorie, zeigten sehr deutlich, dass Wissen, Verständnis und Sichtweise auf die Natur zu jedem Zeitpunkt kritisch und offen betrachtet werden sollten.

Um so eindringlicher stellt sich diese Situation in Biologie und Medizin dar. Es ist klar, dass für die komplexe belebte Materie noch kein umfassendes, grundlegendes Verständnis vorhanden ist, weder biologisch, phenomenologisch, noch physikalisch. All diese Aspekte haben für die Beschreibung des Lebens und dessen Grundlagen gleichermaßen Wichtigkeit. So war es Schrödinger, mit einer damals für die Biologie unpopulären, physikalischen Sichtweise, der 1944 in seinen Vorlesungen „Was ist Leben?“ [2], die Notwendigkeit eines molekularen Kristalls zur Speicherung der für das Leben notwendigen Informationen postulierte. 1953, nur ein paar Jahre später, wurde dieser in Form der DNA, von Watson und Crick gefunden [3, 4].

Die Anwendung physikalischer Prinzipien in der Biologie hat erst über die letzten Jahrzehnte wieder verbreitete Akzeptanz in Form der Biophysik gefunden. Ihre Ursprünge liegen jedoch weiter in der Vergangenheit. Beispielsweise gelang Helmholtz bereits 1850 bei der Untersuchung elektrischer Phänomene an Nerven, die experimentelle Bestimmung der Nervenreizleitungsgeschwindigkeit [5]. 1912 versuchte Wilke dann die Grundlagen der Nervenreizleitung auf die Basis der Wellenausbreitungstheorie der Physik zu stellen [6, 7]. Ein Nervenimpuls sollte nicht mehr sein, als ein Wellenpaket auf der Zellwand des Nerven. Da Wilkes Ausführungen damals nicht weiter überprüft oder bekannt wurden, war die Idee des Nervenpulses als Wellenpaket schnell wieder vergessen.

Die bis heute anerkannte Theorie der Nervenreizleitung wurde erst später von Hodgkin und Huxley entwickelt [8]. Sie beruht nicht auf einem simplen physikalischen Phänomen, wie der Wellenausbreitung, sondern verwendet ein komplexes Zusam-

menspiel von Protein-Ionenkanälen und Ionenströmen, die aus und in die Nervenzelle fließen, um das elektrisch messbare Signal eines Nervenreizes, das Aktionspotential, zu reproduzieren.

In ihren Arbeiten von 1952 betonten Hodgkin und Huxley, dass die physikalische Interpretation, die sie anstellten, wahrscheinlich nicht ein korrektes Bild der Zellmembran und ihrer Vorgänge wiedergibt: „For the sake of illustration we shall try to provide a physical basis for the equations, but must emphasize that the interpretation given is unlikely to provide a correct picture of the membrane.“ [8]. Ihre Theorie stellte vor allem die elektrische Erscheinung sehr gut dar. Es war ihnen schon damals klar, dass mit ihrem Modell nicht die gesamte Phänomenologie der Nervenreizausbreitung erschöpfend beschrieben werden kann.

Andere Merkmale als die elektrischen Änderungen des sich ausbreitenden Aktionspotentials blieben unbeachtet. So zeigen sich auch thermische und mechanische Veränderungen [9, 10, 11]. Trotz des Versuchs diese Erscheinungen mit der etablierten Theorie von Hodgkin und Huxley (H&H-Theorie) zu vereinen, blieben viele Aspekte nicht zweifelsfrei klärbar. Das thermische Aufheizen und Abkühlen während eines Aktionspotentials ist nach wie vor nicht schlüssig in die H&H-Theorie integriert [11]. Dagegen ist der Einfluss der Umgebungstemperatur auf die Reizausbreitung mit der H&H-Theorie beschreibbar, wobei dies durch Modifizieren von Fitting-Parametern im Modell geschieht. Letztendlich ergibt sich ein Bild der H&H-Theorie, das geprägt ist durch den Erfolg der elektrischen Beschreibung, dabei aber inhärente Eigenschaften des Aktionspotentials zunächst außer Acht lässt.

Um die Unzulänglichkeiten der H&H-Theorie zu klären, wurde die Idee von Wellenpaketen als Bild für Aktionspotentiale wieder aufgegriffen [12, 13, 14, 15, 16, 17, 18]. Es zeigte sich, dass das Bild der Nervenreizleitung als Wellenphänomen mit den biologischen Aspekten in Einklang zu bringen ist. Um diese Idee auf eine gute Grundlage zu stellen, ist es nötig, Wellenerscheinungen auf Zellmembranen, bzw. deren Modellsystemen, ausführlich zu untersuchen und in den bestehenden biologischen Rahmen einzuordnen.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich deshalb mit der Dynamik, der Wellen/Puls-Erzeugung und der Wellen/Puls-Ausbreitung in einem einfachen Modell für Zellwände. Dazu wird in Kapitel 2 zunächst eine kurze Einführung in die biologischen, chemischen und physikalischen Grundlagen des verwendeten Zellwand-Modells, des Lipid-Monolayers, gegeben. Die folgenden Untersuchungen untergliedern sich dann im wesentlichen in drei Teile.

In Kapitel 3 wird eine Simulation entwickelt und vorgestellt, die in der Lage ist sowohl thermodynamische, als auch elastisch-dynamische Eigenschaften von Lipid-Monolayern wiederzugeben. Das bekannte Ising-Modell für Monte Carlo Simulationen von Lipid-Monolayern [19, 20, 21, 16] wird zunächst dargestellt, um anschließend dynamisch erweitert zu werden. Das üblicherweise steife, hexagonale Gitter des Modells, wird durch ein flexibles Netz aus Federn ersetzt und der, für numerische Rechnungen benutzte, Monte Carlo Zyklus um einen Schritt erweitert, der es jedem Gitterplatz ermöglicht, sich räumlich zu verschieben. Letztere sind mit Lipiden besetzt, deren messbar, bekannte elastische und thermodynamische Eigenschaften benutzt werden um die Parameter der Simulation zu bestimmen. Zwei neu eingeführte Parameter, die einer Zeit- und einer Reibungskonstante entsprechen, werden mit Hilfe eines Vergleiches von Messung und Berechnung festgelegt, um den Parametersatz für die folgenden Berechnungen von Monolayer-Isothermen zu fixieren. Abschließend wird ein dynamisches Experiment (durchgeführt von J. Neumann und M. Hennig [22, 23]) implementiert, in dem in einer Bilayer-Membran, die aus einer Mischung aus Fluoreszenz markierten und reinen Lipiden gebildet wird, durch eine stehende Welle, ein in einem Fluoreszenzmikroskop beobachtbares Streifenmuster erzeugt wird.

Kapitel 4 zeigt und analysiert eine Möglichkeit Lipid-Monolayer durch ein elektrisches Hochfrequenzfeld anzuregen. Eine kurze theoretische Erörterung zeigt zunächst, dass Lipid-Monolayer in der Lage sein sollten akustische, longitudinale Wellen zu tragen. Für die experimentelle Anregung wird eine interdigitale Transducer-Struktur (IDT) auf einem Glassubstrat aufgebracht, an den Monolayer gekoppelt und mit einer hochfrequenten Wechselspannung betrieben [18]. Das entstehende elektrische Wechselfeld koppelt an die Ladungen oder Dipole der Lipide und regt diese an. Die durch die IDT Struktur eindeutig vorgegebene Wellenlänge, erlaubt es, die gemessenen, bei bestimmten Frequenzen im MHz-Bereich auftretenden Oberflächendruck erhöhungen zu benutzen, um dem, auf dem Monolayer erzeugten, Wellenphänomen eine Ausbreitungsgeschwindigkeit zu zuordnen. Die Geschwindigkeiten sind, ohne zusätzliche Fitting-Parameter, mit den theoretischen Erwartungen, auf Grund der statisch gemessenen Kompressibilität, sehr gut vergleichbar. Nach der Betrachtung der Energieerhaltung im Monolayer, wird das beobachtete Phänomen abschließend diskutiert und interpretiert.

In Kapitel 5 wird ein System entwickelt, das durch die ausschließliche Verwendung biologisch relevanter Materialien direkten Bezug zur Ausbreitung von Nervensignalen impliziert. Pulse auf Lipid-Monolayern werden durch das Aufbringen von Tropfen verschiedener Substanzen angeregt. Durch die kurzzeitige Wechselwirkung der aufgetropften Stoffe mit dem Lipid-Monolayer entstehen Oberflächendruckpulse, die

sich ausbreiten und durch die Verwendung zweier Oberflächendrucksensoren, die einen bekannten Abstand besitzen, analysiert werden. Die Ausbreitung von Wellen, ähnlich diesen Pulsen, wurde bereits von J. Lucassen im Rahmen der Kapillarwellentheorie auf Wasser betrachtet [24, 25]. Um im vorliegenden Fall, die niederfrequente Anregung mit der hochfrequenten aus Kapitel 4 zu verknüpfen, wird eine Theorie entwickelt, die sowohl den Grenzfall hochfrequenter, als auch den von niederfrequenten Wellen nach J. Lucassen beinhaltet [26]. Bei den folgenden Experimenten wird zunächst eine Analyse der Anregung durch verschiedene Lösungsmittel durchgeführt. Anschließend werden an Stelle der Lösungsmittel Säuren verwendet, um ein Modell für die Verbindungsstelle zweier Nervenzellen, den synaptischen Spalt, zu erhalten. Tatsächlich zeigt die dort auftretende Essigsäure eine erstaunliche Fähigkeit Pulse auf Monolayern anzuregen. Es wird eine pH-abhängige Analyse durchgeführt und die elektrische Oberflächenpotentialänderung des Lipid-Monolayers mit Hilfe einer Kelvinsonde bestimmt und mit dem Oberflächendruck der Monolayer verknüpft. Um den Schritt zu biologischen Nervensystemen darzustellen, werden die Experimente zur Essigsäureanregung abschließend noch an Schweinehirn-Lipid-Monolayern durchgeführt.

Kapitel 6 baut auf den Implikationen der gemachten Messungen auf, um eine einfache Wellentheorie der Nervenreizleitung abzuleiten, die die H&H-Theorie als vereinfachten Bestandteil beinhaltet. Die H&H-Theorie wird näher vorgestellt und die zuvor erwähnten Parallelen zum synaptischen Spalt weiter erörtert. Die Verknüpfung zur H&H-Theorie ergibt sich schließlich durch die Einführung der Oberflächendruckabhängigkeit der Membranleitfähigkeit. Diese Annahmen werden abschließend in einer Wellengleichung vereint, die eine Wellentheorie der Nervenreizleitung widerspiegelt. Letztere beinhaltet die bekannte H&H-Theorie in vereinfachter Form und erklärt damit neben der elektrischen, auch die mechanische und thermische Phänomenologie der Nervenreizleitung.

Kapitel 2: Lipidmembranen.

Einführung in Theorie und Experiment

Hier soll ein kurzer einleitender Überblick über die verwendeten biologischen Materialien, im wesentlichen Phospholipide, gegeben werden. Ihre Eigenschaften werden in einer möglichst thermodynamischen Sichtweise dargestellt, wobei im speziellen Wert auf das elastische Verhalten der von ihnen erzeugten Strukturen gelegt wird. Detaillierte experimentelle und theoretische Darstellungen lassen sich in [27, 28] finden, wobei weitergehende thermodynamische Betrachtungen in [29, 30] behandelt werden. Darüber hinaus wird in [16] ein empfehlenswerter Überblick zu Lipid-Strukturen und deren Thermodynamik gegeben.

2.1. Lipidstruktur

Den Hauptbestandteil biologischer Zellwände stellt neben einer Vielzahl an Proteinen und Peptiden, die Stoffgruppe der Lipide dar. Häufig vorkommende Vertreter sind die Phospholipide. Bei ihnen handelt es sich um amphiphile Moleküle, die sich aus einem hydrophilen Kopf und zwei hydrophoben Kohlenwasserstoffketten zusammensetzen. Sie bestehen im wesentlichen aus einem Glycerol-Phosphorsäure-Rückgrat, das mit zwei langkettigen Fettsäuren und, über die Phosphatgruppe, mit einem kurzen hydrophilen Alkohol verestert ist.

Abbildung 2.1 zeigt zwei typische Vertreter der Phospholipide, mit denen in dieser Arbeit hauptsächlich gearbeitet wird. Diese sind *1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholin* (DPPC, Molmasse $734,1 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$) und *1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol)* (DPPG, Molmasse $744,9 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$). Diese beiden Lipide sind bis auf die Kopfgruppe identisch, und unterscheiden sich durch ihre Gesamtladung. DPPC ist, im Gegensatz zu DPPG, durch die positive Ladung der Cholingruppe (*grün* in Abbildung 2.1) insgesamt nicht negativ geladen. Für beide Lipidtypen sei hier erwähnt, dass sich ihre Ladung durch Ansäuern des umgebenden Mediums und damit durch Protonieren des negativen Sauerstoffs der Phosphorsäure, in ihrer Gesamtladung verändern lassen.

2.2. Lipidmembranen

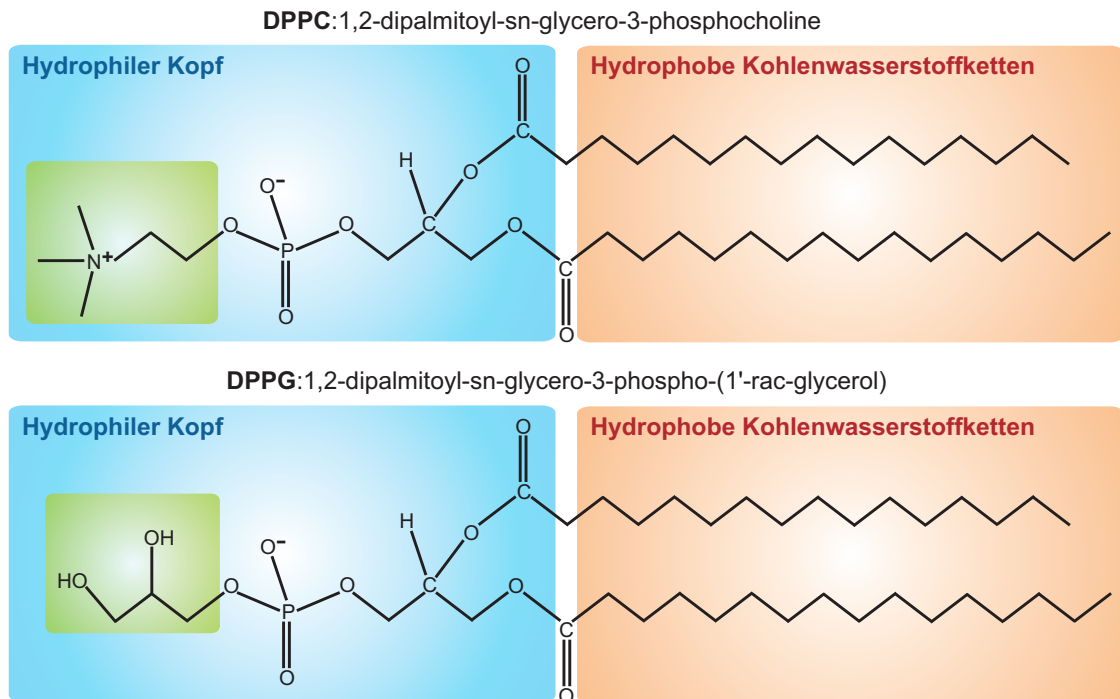


Abbildung 2.1.: Struktur der in dieser Arbeit hauptsächlich verwendeten Lipide von *1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine* (DPPC) und *1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol)* (DPPG).

2.2. Lipidmembranen

Auf Grund ihres amphiphilen Charakters und ihrer (Kegelstumpf-)Geometrie richten sich Phospholipide in Kontakt mit Wasser aus und ordnen sich zu Überstrukturen, in denen die hydrophoben Kohlenwasserstoffketten vom Wasser abgeschirmt werden. Abbildung 2.2 zeigt die entstehenden uni- oder multilamellaren Vesikel, die aus bimolekularen Lipidschichten (Bilayern), bestehen. Letztere setzen sich aus zwei monomolekularen Lipidschichten (Monolayern) mit einander zugewandten Kohlenwasserstoffketten zusammen. Für sehr hohe Konzentrationen bilden die Lipide darüber hinaus kubische oder invers hexagonale Gelstrukturen. Eine biologische Zellwand besteht aus einem Bilayer, der aus Lipiden verschiedener Typen aufgebaut ist und in den eine Vielzahl von Peptiden, Proteinen und anderen Stoffen eingebettet sind. So auch im Fall einer Nervenzelle.

Lipid-Bilayer können zudem Phasenübergänge zeigen. Beim so genannten Hauptübergang ändert sich im wesentlichen die Ordnung der Kohlenwasserstoffketten der Lipide. Dabei spricht man von einem Übergang aus der Gel- in die fluide Phase, wobei letztere im Folgenden kurz beschrieben werden sollen.

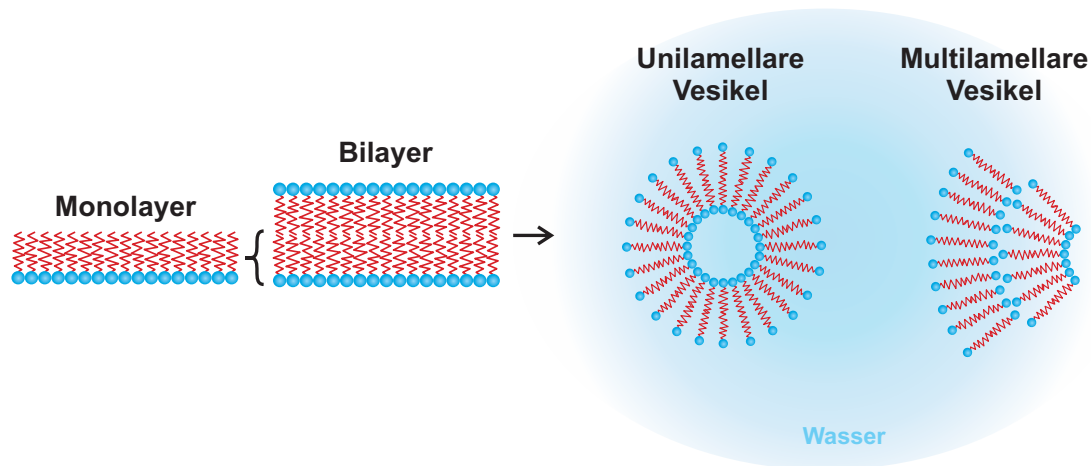


Abbildung 2.2.: Typische Strukturen zu denen sich Lipid organisieren wenn sie in Kontakt mit Wasser kommen. Je nach Konzentration der Lipide im Wasser bilden sich unter anderem uni- oder multilamellare Strukturen aus.

- *GelPhase ($L_{\beta'}$ Phase)*: Bei niedrigen Temperaturen sind die Kohlenwasserstoffketten großteils geordnet (in *trans-Konformation*) und mit einem festen Winkel zur Membranoberfläche versehen. In dieser festeren Phase sind die Lipide im solid-geordneten Zustand.
- *Fluide Phase (L_{α} Phase)*: Bei hohen Temperaturen sind die Kohlenwasserstoffketten großteils ungeordnet (in *gauche-Konformation*). Sie nehmen eine größere Fläche in Anspruch als in der Gel Phase. In dieser flüssigen Phase sind die Lipide im fluid-ungeordneten Zustand.

Die Phasen treten abhängig von Druck, Temperatur und anderen einflussnehmenden thermodynamischen Größen auf. Bei konstantem Druck wird die Temperatur bei der der Hauptübergang auftritt hauptsächlich durch die Länge der hydrophoben Kohlenwasserstoffketten und deren Sättigung bestimmt. Je länger die Ketten sind, desto höher ist die Phasenübergangstemperatur und umgekehrt. Dagegen erniedrigt sich die Übergangstemperatur, wenn die Ketten ungesättigt sind (Doppelbindungen zwischen C-Atomen der Kohlenwasserstoffketten).

Wie für Bilayer existieren für Monolayer äquivalente Phasen die in Abschnitt 2.4 näher erläutert werden.

2.3. Thermodynamische Beschreibung von Lipidmembranen

Im folgenden werden die wichtigsten Größen und Eigenschaften der thermodynamischen Beschreibung von Lipidmembranen aufgeführt. Für den Fall der hier betrachteten zweidimensionalen Lipidmembranen werden die dreidimensionalen Größen des Drucks p und des Volumens V durch die entsprechenden Größen des Oberflächendrucks π und der Oberfläche A ersetzt. Damit stellt sich der erste Hauptsatz der Thermodynamik in folgender Weise dar:

1. Hauptsatz der Thermodynamik: $dE = dQ + dW = TdS - \pi dA (+\Psi dq)$ (2.1)

Die Membraneigenschaften in Gleichung 2.1 sind: S die Entropie, T die Temperatur, π der Oberflächendruck, A die Fläche und, falls mitberücksichtigt, Ψ das Oberflächenpotential und q die Oberflächenladung. Die am häufigsten verwendeten thermodynamischen Potentiale besitzen demnach folgende differentielle Formen.

Helmholtz freie Energie: $dF = -SdT - \pi dA (+\Psi dq)$ (2.2)

Freie Enthalpie: $dH = TdS + Ad\pi (+\Psi dq)$ (2.3)

Gibbs freie Energie: $dG = -SdT + Ad\pi (+\Psi dq)$ (2.4)

Mit Hilfe der in diesen Potentialen auftretenden extensiven und intensiven Größen lassen sich verschiedene physikalische Eigenschaften definieren. Unter diesen werden in dieser Arbeit meistens die isobare Wärmekapazität c_π , die isotherme Kompressibilität κ_T oder der isobare Wärmeausdehnungskoeffizient α_π betrachtet. Spielt zusätzlich die Ladung der Membran eine Rolle, so lässt sich darüber hinaus eine elektrische Kapazität C_T der Membran bestimmen. Diese entspricht der Fähigkeit der Membran ihre Dipole oder Ladungen anzuordnen.

Isobare Wärmekapazität: $c_\pi = \left(\frac{\partial Q}{\partial T}\right) = \left(\frac{\partial H}{\partial T}\right)_\pi = T \left(\frac{\partial S}{\partial T}\right)_\pi$ (2.5)

Isotherme Kompressibilität κ_T (Elastizität E_T): $\kappa_T = \frac{1}{E_T} = -\frac{1}{A} \left(\frac{\partial A}{\partial \pi}\right)_T$ (2.6)

Isobarer Wärmeausdehnungskoeffizient: $\alpha_\pi = \frac{1}{A} \left(\frac{\partial A}{\partial T}\right)_\pi$ (2.7)

$$\begin{aligned} \text{Isotherme Kapazität: } C_T &= \left(\frac{\partial q}{\partial \Psi} \right)_T = \left(\frac{\partial q}{\partial \pi} \right)_{A,T} \left(\frac{\partial \pi}{\partial \Psi} \right)_{A,T} \\ &\stackrel{-\left(\frac{\partial A}{\partial \Psi} \right)_{q,T} = -\left(\frac{\partial q}{\partial \pi} \right)_{A,T}}{=} - \left(\frac{\partial A}{\partial \Psi} \right)_{q,T} \left(\frac{\partial \pi}{\partial \Psi} \right)_{A,T} \end{aligned} \quad (2.8)$$

Die, für akustische Wellenphänomene wichtige, adiabatische Kompressibilität κ_S lässt sich mit Hilfe von κ_T , c_P und α_π ausdrücken (Herleitung in Anhang A.1):

$$\text{Adiabatische Kompressibilität: } \kappa_S = -\frac{1}{A} \left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_S = \kappa_T - \frac{TA}{c_\pi} \alpha_\pi^2 \quad (2.9)$$

Während des Phasenübergangs einer Lipidmembran können neben diesen allgemeinen Relationen noch weitere Proportionalitäten gezeigt werden. Dazu lässt sich mit der latenten Wärme, die während des Phasenübergangs nötig ist oder entsteht, eine Überschuss-Wärmekapazität Δc_π definieren:

$$c_\pi = c_{\pi,0} + \Delta c_\pi = \left(\frac{\partial H_0}{\partial T} \right)_\pi + \left(\frac{\partial(\Delta H)}{\partial T} \right)_\pi \quad (2.10)$$

Δc_π entspricht dem Anteil der Wärmekapazität, der explizit für den Phasenübergang auftritt. Dieser Anteil kann, wie in Gleichung 2.10 zu sehen ist, wie die herkömmliche Größe von der sie abgeleitet ist (hier die Enthalpie H) verwendet werden und ist während des Phasenübergangs ausschlaggebend, so dass dort (bis auf konstante Werte) $c_\pi \approx \Delta c_\pi$ gilt. Auf gleiche Art und Weise lassen sich die Überschuss-Kompressibilität $\Delta \kappa_T$, der Überschuss-Wärmeausdehnungskoeffizient $\Delta \alpha_\pi$ und die Überschuss-Kapazität ΔC_T definieren. Für Lipidmembranen kann gezeigt werden (siehe Anhang A.2), dass sich zwischen diesen Größen eine näherungsweise direkte Proportionalität ergibt [14, 31]:

$$\Delta c_\pi \propto \Delta \kappa_T \propto \Delta \alpha_\pi \propto \Delta C_T \quad (2.11)$$

Diese Proportionalität bedeutet, dass, wann immer sich im Phasenübergang eine Membraneigenschaft verändert, sich alle anderen Eigenschaften mit ändern werden. Bestimmt man die entsprechenden Proportionalitätsfaktoren (siehe Anhang A.2), kann so, kennt man beispielweise κ_T , die experimentell nur sehr schwer zugängliche Wärmekapazität c_π eines Monolayers bestimmt werden.

2.4. Untersuchung von Monolayern mit Hilfe der Filmwaagentechnik

2.4.1. Grundlagen und Prinzip der Filmwaagentechnik

Bereits 1878 zeigte Gibbs in seinen Abhandlungen [32], dass, immer wenn sich die Oberflächenspannung einer Zwischenschicht durch Zugabe einer Substanz verändert, auf deren Ansammeln an der Grenzfläche geschlossen werden kann [33]. Langmuir nutzte dieses Verhalten um monomolekulare Filme (beispielsweise Lipid-Monolayer) auf Wasser und später zusammen mit Blodgett auf feste Substrate aufzubringen [34, 35].

Der prinzipielle Aufbau einer Filmwaage, wie sie in dieser Arbeit zur Untersuchung von Lipid-Monolayern verwendet wird, ist in Abbildung 2.3 zu sehen. Sie besteht hauptsächlich aus einem Teflontrog, der mit Reinstwasser ($18 \frac{M\Omega}{cm}$) oder einer wässrigen Lösung (der sogenannten Subphase) gefüllt ist. Tropft man in Chloroform gelöste Phospholipide auf das Wasser verteilen sich diese über die gesamte Wasseroberfläche. Nachdem das Chloroform verdampft ist, bildet sich ein monomolekularer Film (Lipid-Monolayer) aus. In diesem sind die Lipide so angeordnet, dass ihre hydrophoben Kohlenwasserstoffketten der Luft entgegen gerichtet sind und nur die hydrophilen Köpfe in direkte Wechselwirkung mit dem Wasser treten. Der Oberflächendruck π des Lipid-Monolayers wird mit Hilfe eines Wilhelmy-Plättchens, das die Oberflächenspannung σ des Wassers misst, ermittelt [36]. Im Vergleich zum Ausgangswert σ_0 des reinen Wassers, sinkt die Oberflächenspannung σ mit zunehmender Oberflächendichte der aufgetragenen Lipide und definiert so den Oberflächendruck des Lipid-Monolayers als $\pi = \sigma_0 - \sigma$. Eine bewegliche Teflonbarriere ermöglicht das Komprimieren oder Expandieren der verfügbaren Gesamtfläche A des Monolayers und damit der Fläche pro Lipid. Diese ist bei bekannter Anzahl N der aufgetragenen Lipide, durch die Fläche A dividiert durch N gegeben ($A = A_{ges}/N$). Die Temperatur des gesamten Troges wird zusätzlich durch ein Wärmebad reguliert. Die Herstellung der erwähnten und in dieser Arbeit verwendeten Lipidlösungen und Subphasen ist in Anhang B.1 beschrieben.

Bei allen Experimenten dieses Typs muss auf größtmögliche Sauberkeit geachtet werden, da bereits kleinste Verunreinigungen Einfluss auf den Monolayer nehmen, der selbst nur aus sehr wenigen Molekülen ($\approx 5 \cdot 10^{16}$) besteht. Ein typischer Experimentablauf ist in Anhang B.2 beschrieben. Je nach Experiment wurde für diese Arbeit eine kommerziell erhältliche Filmwaage (*NIMA, Typ 611D, Coventry, England*), die den obigen Ansprüchen genügt, modifiziert und umgebaut. Diese bietet neben der Elektronik um die Oberflächendrucksensoren (*NIMA, Typ PS4, Coventry,*

England) auszulesen, auch die Möglichkeit zum Anschluß eines Temperaturfühlers (NIMA, Typ Temperature sensor, Coventry, England) oder einer, in Abschnitt 2.4.3 beschriebenen, Kelvinsonde (TREK, Model 325, New York, USA). Außerdem verfügt die Filmwaage über einen Dipper-Mechanismus (NIMA, Typ D1L Coventry, England) wie es in Abbildung 4.1 in Kapitel 4 skizziert ist. Dieser wird normalerweise dazu benutzt Substrate sehr langsam in die Subphase des Filmwaagentroges zu tauchen, um diese mit Mono- oder Bilayern nach dem Verfahren von Langmuir-Blodgett [35, 33] zu beschichten. Die gesamte Filmwaage und ihre Sensoren können von der vorhandenen Software (NIMA, Version 6.20 oder 5.16, England) kontrolliert und ausgelesen werden.

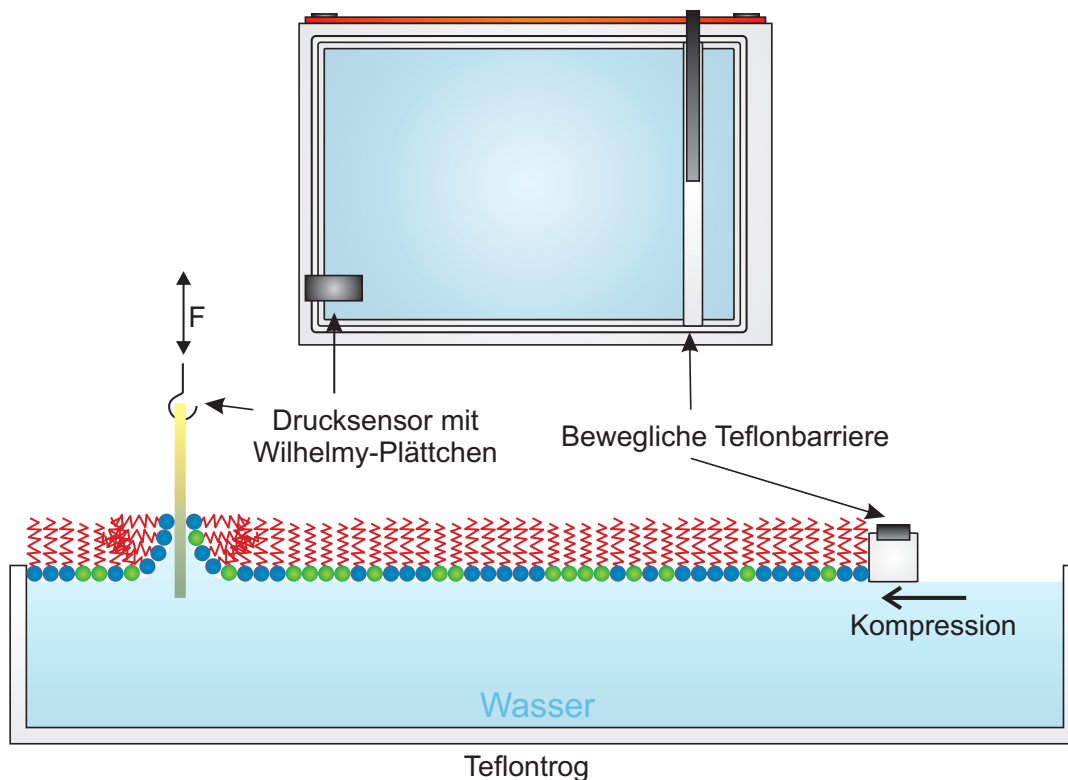


Abbildung 2.3.: Prinzipieller Aufbau einer Filmwaage. Lipide werden auf die sogenannte Subphase, die meist Wasser oder eine wässrige Lösungen ist, in einem Teflontrog gegeben und bilden einen Monolayer aus. Die Oberflächenspannung σ der mit dem Monolayer belegten Wasseroberfläche, wird mit Hilfe eines Wilhelmy-Plättchens an einer Waage bestimmt. Als Material für das Plättchen mit dem Umfang L dient ein Stück Chromatographiepapier, das einen Benetzungswinkel von 90° garantiert, so dass durch die Messung der am Plättchen angreifenden Kraft F die Oberflächenspannung $\sigma = F/L$ bestimmbar ist. Die Monolayerfläche kann mit Hilfe einer Teflonbarriere komprimiert oder expandiert werden. Die Verwendung von Teflonteilen dient zur Wahrung der bestmöglichen Kontaminationsfreiheit der Filmwaage (Teflon ist ein gut zu reinigendes Material und kann als chemisch inert angesehen werden, so dass kein ungewollter Stoffaustausch mit der Subphase stattfinden kann).

Eine Standardmessung stellt das Aufzeichnen einer Isotherme (Abbildung 2.4) dar, bei der, während des langsamen Komprimierens der zur Verfügung stehenden Lipidfläche A (mit $\approx 2,5 \frac{\text{\AA}^2}{\text{min}}$), der Oberflächendruck π des Monolayers bestimmt wird. Man erhält die Isotherme in Form einer Funktion $\pi(A)$ die im Sinne der Phaseneigenschaften der Lipide interpretiert werden kann.

2.4.2. Isothermen und Phasen von Monolayern

Eine typische Isotherme eines DPPC-Monolayers bei 24°C ist in Abbildung 2.4 zu sehen. Wie beim Lipid-Bilayer (vgl. Abschnitt 2.2) treten bei Lipid-Monolayern in Abhängigkeit vom Oberflächendruck verschiedene Phasen auf, die sich in der Isotherme (hier am Beispiel von Abbildung 2.4) identifizieren lassen [37].

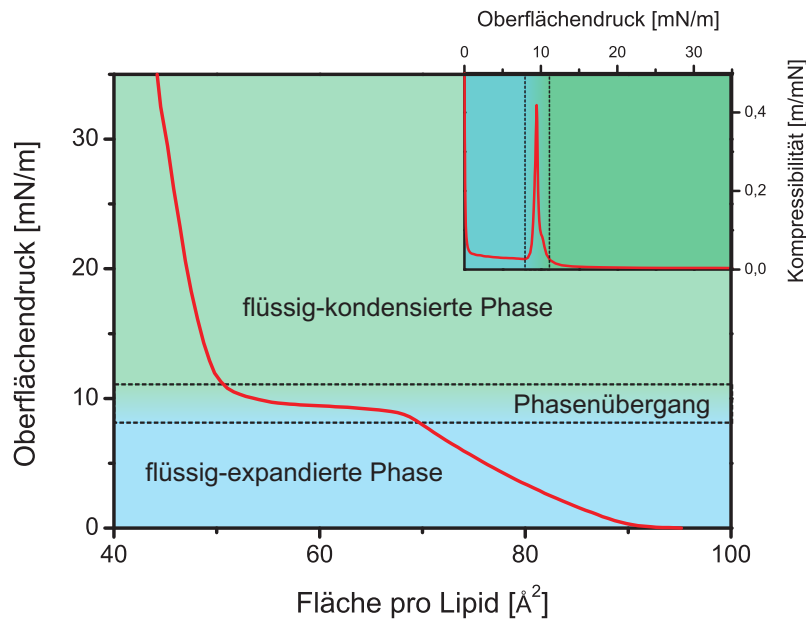


Abbildung 2.4.: Typische Isotherme eines DPPC Monolayers bei 24°C . Grün sind die Bereiche der flüssig-kondensierten Phase, blau die Bereiche der flüssig-expandierten Phase des Lipid-Monolayers hinterlegt. Der Phasenübergangsbereich ist zwischen den beiden Phasen umrahmt. Der Inset-Graph zeigt die entsprechende Kompressibilität des Monolayers, die im Phasenübergangsbereich maximal wird.

- **Gasanaloge Phase:** $\approx 0\text{--}0,1\text{mN/m}$ (nicht aufgelöst in Abbildung 2.4). Die Lipidmoleküle sind, ähnlich wie freie Gasteilchen, weiträumig, ungeschlossen auf der Wasseroberfläche verteilt und treten in keine ständige, direkte Wechselwirkung zueinander. Die Kohlenwasserstoffketten der Lipide liegen ungeordnet auf der Wasseroberfläche. Wegen den niedrigen auftretenden Oberflächendrücken ist sie nur schwer in Isothermen erkennbar.

- **Flüssig-expandierte Phase:** $\approx 0.1 - 8 \text{ mN/m}$ (blau hinterlegt in Abbildung 2.4). Nach einem Phasenübergang 1. Ordnung mit der gasanalogen Phase, bilden die Lipide nun einen geschlossenen, immer noch „flüssigen“ Monolayer, in dem sie miteinander wechselwirken. Die Kohlenwasserstoffketten der Lipide liegen zum Teil (mit zunehmendem Druck immer weniger) noch auf der Wasseroberfläche, besitzen keinerlei bevorzugte Ausrichtung und sind größtenteils ungeordnet (in *gauche-Konformation*). Das Analogon der Bilayer-Phasen (Abschnitt 2.2) ist die Fluide Phase (L_α Phase).
- **Phasenübergang, flüssig-expandierte zu flüssig-kondensierter Phase:** $\approx 8 - 11 \text{ mN/m}$ (blau-grün hinterlegt in Abbildung 2.4). Wegen des nahezu horizontalen Verlaufs der Isothermen in diesem Bereich, wird dieser Phasenübergang meist als Phasenübergang 1. Ordnung oder „schwacher“ 1. Ordnung bezeichnet [38, 37]. Die Herkunft der nicht perfekt horizontalen Steigung wurde ausgiebig in früherer Literatur diskutiert. Experimente ohne bewegliche Barriere, bei denen die Kompression durch Hinzugabe von Lipiden erreicht wurde [39], zeigten nahezu perfekt horizontale Phasenübergangsplateaus, was darauf hindeutet, dass bei Barrierenversuchen durch das gleichmäßige Komprimieren das Gleichgewicht im Monolayer nicht erreicht wird und dadurch kein „reiner“ Phasenübergang 1. Ordnung entsteht. Dagegen spricht allerdings, dass spätere Untersuchungen unter gleichen Bedingungen, bei sehr langsamer Barrieren-Kompressionsrate (über mehr als 10 Stunden) [40] keine deutliche Änderung der Horizontalensteigung im Phasenübergang ergaben. Schlußendlich liegt es damit nahe, die Gründe in spezifischeren Lipideigenschaften, wie dem Dipolmoment oder dem Verschmelzen von Domänen [41], zu suchen und die Bezeichnung „Phasenübergang 1. Ordnung“ stets unter Berücksichtigung dieser Aspekte zu verstehen.
- **Flüssig-kondensierte Phase:** $\approx 11 - 35 \text{ mN/m}$ (grün hinterlegt in Abbildung 2.4). Die Lipide bilden einen geschlossenen Monolayer, der im Vergleich zur flüssig-expandierten Phase wesentlich zäh viskoser, manchmal nahezu rigide ist. Alle Kohlenwasserstoffketten sind geordnet (in *trans-Konformation*), von der Wasseroberfläche aufgerichtet und können in geneigter Ausrichtung vorliegen, wobei sie immer noch Rotationsfreiheit besitzen. Das Analogon der Bilayer-Phasen (Abschnitt 2.2) ist die Gelphase (L_β Phase).
- **Festanaloge Phase:** $> 35 - 45 \text{ mN/m}$ (nicht mehr dargestellt in Abbildung 2.4). Nach einem Phasenübergang 2. Ordnung mit der flüssig-kondensierten Phase, bilden die Lipide einen rigiden, dicht geschlossenen Monolayer. Die geordneten (in *trans-Konformation*) Kohlenwasserstoffketten haben die gleiche

Ausrichtung und weisen eine mit kristallisiertem Paraffin vergleichbare Packungsdichte auf.

- **Kollaps des Monolayers:** $> 50 \text{ mN/m}$ (nicht mehr dargestellt in Abbildung 2.4). Der Monolayer ist zerstört und bricht, wobei sich beispielsweise dreidimensionale Strukturen (Mehrfachschichten) ausbilden oder Vesikel in die Subphase abgeschnürt werden können.

Die phasenabhängigen, elastischen Eigenschaften des Monolayers werden durch die isotherme Kompressibilität κ_T beschrieben (Inset-Graph von Abbildung 2.4). κ_T wird bei gemessener Isothermenkurve $\pi(A)$ mit Hilfe von Gleichung 2.6 numerisch berechnet. Im Inset von Abbildung 2.4 ist zu sehen, wie sich mit κ_T den verschiedenen Phasen eines Monolayers Steifigkeiten zuordnen lassen. Ist κ_T in der flüssig-expandierten Phase noch relativ klein, der Monolayer also hart, wird dieser während des Phasenübergangs extrem weich und κ_T damit groß. Schließlich, in der flüssig-kondensierten Phase, bei sehr kleinen Werten für κ_T , wird der Monolayer noch härter als während der flüssig-expandierten Phase.

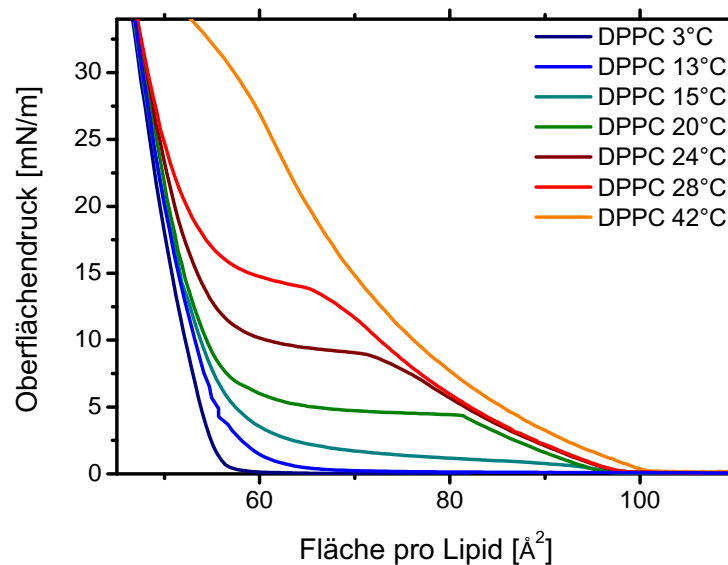


Abbildung 2.5.: Isothermen-Schar eines DPPC-Monolayers bei verschiedenen Temperaturen (3°C , 13°C , 15°C , 20°C , 24°C , 28°C und 42°C). Man erkennt die Verschiebung der Phasenübergangsplateauhöhe, die sich, bei genauer Betrachtung als linear mit der Temperatur korreliert, herausstellt. Darüber hinaus deuten sich bei 3°C bzw. 42°C , die reinen flüssig-kondensierten, bzw. flüssig-expandierten Phasen des Monolayers an.

Wie für Bilayer lässt sich die Phase des Monolayers auch durch die Temperatur verändern, bei der die Experimente durchgeführt werden. Abbildung 2.5 zeigt eine

Schar an DPPC-Monolayer Isothermen, die bei unterschiedlichen Temperaturen aufgezeichnet werden. Bei 3°C zeigt sich noch keinerlei Phasenübergangs-Plateau, das erst bei ca. 14°C auftaucht. Das heisst erst ab dieser Temperatur ist der Monolayer bei großen Flächen tatsächlich in der flüssig-expandierten Phase. Gleichermassen erkennt man in Abbildung 2.5, dass bei 42°C , das ausgeprägte horizontale Plateau fast verschwindet und somit andeutet, dass der Monolayer bei dieser Temperatur über die komplette gezeigte Isotherme hinweg in der flüssig-expandierten Phase vorliegt. Bei genauer Analyse lässt sich zudem erkennen, dass sich die Höhe des Plateaus, sprich der Phasenübergangsdruck, in einem weiten Bereich nahezu linear mit der Temperatur verändert. Dieses Verhalten kann als sehr allgemein aufgefasst werden, da es ebenfalls für andere Phospholipide oder sogar Lipidmischungen [42, 31] auftritt. In diesem Sinne wird es in Anhang A.2 zur Herleitung der Proportionalitäten in Gleichung 2.11 benutzt.

2.4.3. Oberflächenpotentialmessung von Monolayern

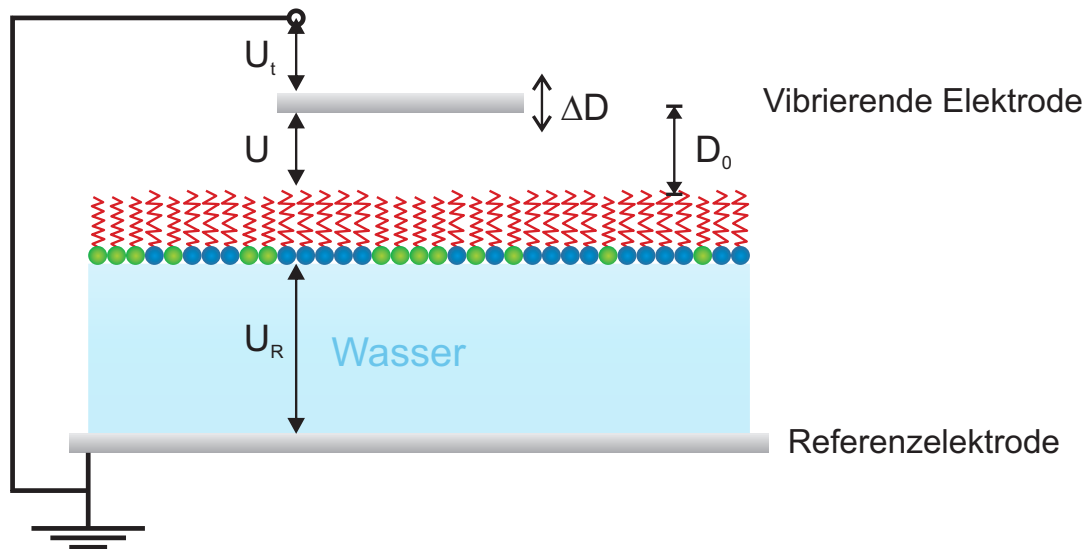


Abbildung 2.6.: Prinzipskizze einer Kelvinsonde, die um einen Lipid-Monolayer aufgebaut ist. Eine Elektrode mit Abstand D_0 über der Wasseroberfläche vibriert mit der Frequenz ω und der Amplitude ΔD . Zwischen der Referenzelektrode und dem Monolayer besteht das Potential U_R , zwischen vibrierender Elektrode und Oberfläche das Potential U . Änderungen des Oberflächenpotentials übertragen sich also direkt auf U und U_R . Der Strom $I(\omega)$, der durch die Spannung U von oder auf die Elektrode fließt, wird durch eine zusätzliche, externe Spannung $U_t = U_{t0} \cos(\omega t)$ kompensiert. In Anhang A.3 wird gezeigt, dass nun $U_{t0} \propto U$ und damit U durch entsprechende Kalibrierung messbar ist.

Im elektrischen Feld erzeugt ein Lipid-Monolayer eine Spannungsänderung, die als sein Oberflächenpotential bezeichnet wird. Als Ursprung für dieses sind, wie beim

Dielektrikum im Kondensator, die Dipolmomente und Ladungen der Lipide anzusehen. Je nach Kopfgruppe ändert sich das gemessene Oberflächenpotential [43, 44]. Zusätzlich spielen noch die Kohlenwasserstoffketten eine Rolle, wobei die terminalen CH_3 -Gruppen den größten Einfluss besitzen [44, 45]. Unabhängig von den Lipiden selbst ändert sich das gemessene Oberflächenpotential auch durch die in der Subphase des Monolayers vorhandenen Ionen und der erzeugten Struktur des Wassers [46, 47]. Vor allem letztere Anmerkung zeigt, dass kein klares Bild besteht, in dem der Ursprung des Potentials eindeutig geklärt ist. Ein guter, zusammenfassender Überblick über Ursachen und Einflüsse des Oberflächenpotentials von Lipid-Monolayern ist in [48] gegeben.

Zur Messung des Oberflächenpotentials eines Lipid-Monolayers kann eine Kelvinsonde verwendet werden [48]. Abbildung 2.6 zeigt die prinzipielle Funktionsweise. Eine mit der Frequenz ω vibrierende Elektrode wird über dem Monolayer gegenüber einer Referenzelektrode betrieben. Änderungen des Oberflächenpotentials spiegeln sich direkt in Veränderungen des Potentials U (siehe Abbildung 2.6) wieder. Der durch das Vibrieren entstehende Strom wird mit Hilfe einer zusätzlich angelegten Spannung $U_t = U_{t0}\cos(\omega t)$ kompensiert, für die $U_{t0} \propto U$ (in Anhang A.3 gezeigt) gilt. Damit lässt sich durch entsprechende Kalibrierung, das Oberflächenpotential relativ zu einem Ausgangspunkt, den beispielsweise der unkomprimierte Monolayer darstellt, bestimmen.

Abbildung 2.7 zeigt das Beispiel einer Oberflächenpotential-Isotherme eines DPPC-Monolayers zusammen mit dem gleichzeitig ermittelten Oberflächendruck. Es lässt sich erkennen, dass das Potential nahezu sprunghaft stark ansteigt, bei Lipidflächen größer als 90\AA^2 . Dieses charakteristische Verhalten beschreibt das Ansammeln der Lipide zum geschlossenen Monolayer hin, während dessen zweidimensionale „Lipidgasblasen“ auf der Wasseroberfläche unter der Kelvinsonde hinweg treiben und die „Hügelformen“ erzeugen können. Im Anschluss an diesen Bereich der Isothermen zeigt das Oberflächenpotential nahezu den selben Verlauf wie der Oberflächendruck. Ein horizontales Plateau während des Phasenübergangs ist im Potentialverlauf zu erkennen, dessen Höhe sich mit der Temperatur nahezu linear verschiebt [31], was in Anhang A.2 wieder zur Herleitung der Proportionalitäten in Gleichung 2.11 benutzt wird. Erst bei sehr hohen Drücken zeigt das Oberflächenpotential ein Abknicken, das im Druck nicht zu erkennen ist. An dieser Stelle sind die Kohlenwasserstoffketten der Lipide geordnet und ändern die Ausrichtung ihrer, auf das Potential einflussnehmenden, CH_2 - und CH_3 -Gruppen nicht mehr weiter [44]. Die Anordnung der Dipole der Lipidkopfgruppen spielt erst bei noch höheren Kompressionen eine Rolle.

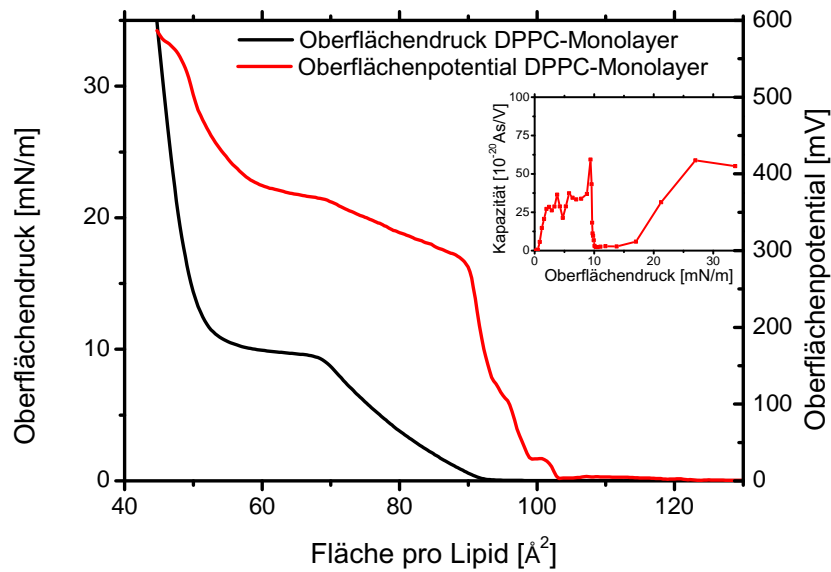


Abbildung 2.7.: Beispiel einer Messung des Oberflächenpotentials mit Hilfe einer Kelvinsonde für einen DPPC-Monolayer bei 24°C. Die Potentialkurve ähnelt im Falle des Lipids DPPC sehr deutlich der Oberflächendruckkurve.

Unabhängig davon geben Kurven wie in Abbildung 2.7 die Möglichkeit, bestimmte Oberflächendrücke mit Oberflächenpotentialen zu verknüpfen. Damit kann die Funktion $\Psi(\pi)$ bestimmt werden und in Gleichung 2.8 dazu benutzt werden, die „Kapazität“ C_T des Monolayers zu bestimmen. Im Inset-Graph von Abbildung 2.7 ist die entsprechend berechnete Kapazität C_T gezeigt. Letztere stellt weniger die Fähigkeit des Monolayers dar, Ladung zu speichern (wie ein Kondensator), als viel mehr ein Maß für die Änderung des Oberflächenpotentials, wenn durch Kompression oder auf anderem Wege die Ladung im oder am Monolayer verändert wird. Die Proportionalität von κ_T und C_T nach Gleichung 2.11 ist, entsprechend der entfernten Verwandtschaft von Ladungs- zu Kompressionszustand, nicht gut zu erkennen (Inset-Graphen von Abbildung 2.7 und 2.4). Zwar zeigen sowohl κ_T als auch C_T Maxima während des Phasenübergangs, doch unterscheiden sich die detaillierten Kurvenverläufe deutlich.

2.5. Der Monolayer als Modell für Bilayer

Abschließend soll noch die Frage diskutiert werden, wie sich das Modell eines Monolayers auf einer Filmwaage in die Biologie einordnen lässt. In welchem Zusammenhang steht der Monolayer zur eigentlichen Zellwand? Warum und wie ist ein Monolayer ein Modell für Bilayer-Membranen?

2.5. Der Monolayer als Modell für Bilayer

Das einfachste, anerkannte Bild eines Bilayers ist das von zwei schwach gekoppelten Monolayern [49, 38, 50, 37, 42]. Berücksichtigt man, dass der Bilayer stets unter einem lateralen Druck steht, der in einem Bereich zwischen 25mN/m und 50mN/m liegt, sollte der Monolayer zum Vergleich unter dem selben Druck betrachtet werden. Die Ähnlichkeit von Mono- und Bilayer zeigt sich damit in einer Vielzahl an Parallelen [51]:

- Die Kohlenwasserstoffketten-Ordnungen der Phasen sind ähnlich (Übergang von *gauche-Konformation* zu *trans-Konformation*).
- Die Phasenübergangstemperatur liegt bei vergleichbaren Temperaturen für entsprechende Oberflächendrücke des Monolayers (je nach Lipidtyp).
- Die Fläche die ein Lipid einnimmt ist vergleichbar (je nach Lipidtyp ungefähr 50\AA^2).
- Die Flächenänderung der Lipide während des Phasenübergangs ist vergleichbar (je nach Lipidtyp ungefähr 25%).
- Die Kompressibilität/Elastizität ist vergleichbar (je nach Lipidtyp ungefähr $0,01\text{m/mN}$).

Die ausgeprägte Ähnlichkeit steht gegenüber den offensichtlichen Unterschieden:

- Bilayer sind von Wasser umgeben und damit an der Wasser-Wasser-Grenzfläche. Monolayer dagegen meist an der Wasser-Luft-Grenzfläche.
- Die Kohlenwasserstoffketten des Bilayers stehen gegenüber anderen Kohlenwasserstoffketten. Die des Monolayers gegenüber von Luft.

Dementsprechend muss abgewägt werden, wann ein Monolayer als Bild für einen Bilayer verwendet werden kann. Auf Grund der Artverwandschaft und der Ähnlichkeiten in spezifischen Eigenschaften, wie sie oben aufgezählt sind, ist für die Untersuchung lateraler Bilayer-Eigenschaften (zum Beispiel Elastizität) das Monolayer-Modell gut geeignet. Deswegen wird es für die vorliegende Arbeit zur Untersuchung von elastischen Wellenphänomenen benutzt. Darüber hinaus bietet das Monolayer-Modell auch die Möglichkeit Lipid-Protein-Wechselwirkungen zu untersuchen [52], könnte aber weder für die Untersuchung der Krümmung noch der Analyse der Leitfähigkeit von Lipid-Bilayern benutzt werden.

Kapitel 3: Dynamische Monte Carlo Simulation von Lipidmembranen

Die Simulation von Lipid-Bilayern oder Monolayern dient in der Biophysik meist dazu ein tieferes Verständnis für bekannte Vorgänge zu erhalten. Molekular-Dynamik (MD) Simulationen berechnen hierbei die detaillierten Wechselwirkungen zwischen allen Atomen eines Systems. Auf diesem Weg kann beispielsweise die Selbstorganisation von Lipiden in Wasser reproduziert werden [53], oder der grobe Verlauf der Isotherme eines kleinen Monolayers [54]. MD Simulationen können zwar bekannte Messungen im molekularen Detail darstellen, aber häufig keine Vorhersagen über makroskopisch messbare Größen treffen. Dagegen stehen die messbaren Größen im Mittelpunkt bekannter Monte Carlo (MC) Simulationen von Lipid-Membranen [19, 55, 56, 21, 57]. Mit Hilfe von statischen Modellen werden hierbei der Phasenübergang von Mono- oder Bilayern berechnet und Messergebnisse für Wärmekapazität, Kompressibilität oder Isothermen vorhergesagt. Die Lipide in diesen Simulationen befinden sich auf einem starren Gitter, so dass der Einfluss der Dynamik der Lipidbewegung nicht berücksichtigt werden kann. Um diese Beschränkung zu überwinden, wird hier eine dynamische Erweiterung dieser Modelle entwickelt und angewendet.

3.1. Monte Carlo Simulationen

Die thermodynamischen Potentiale (Gleichungen 2.2 bis 2.4 in Abschnitt 2.3) sind vollkommen bestimmt, wenn man das Entropiepotential $S(\pi, A, \dots)$ kennt [29]. Nach dem fundamentalen Gesetz von Ludwig Boltzmann [58] ist die Entropie aber auch mit dem statistischen Gewicht W verknüpft:

$$S = k_B \ln W \quad (3.1)$$

W beziffert die Anzahl der Mikrozustände, die zu einem gewissen Makrozustand führen, der die Entropie $S = k_B \ln W$ besitzt. Kennt man demnach alle zustandsabhängigen Mikrozustände eines Systems sind das Entropiepotential S und damit die

thermodynamischen Potentiale und so alle makroskopischen Messgrößen des Systems ermittelbar.

In Monte Carlo Simulationen wird versucht eine möglichst große Anzahl an Mikrozuständen eines Systems zu erzeugen, um obige Zusammenhänge auszunutzen. Diese Idee, vermutlich erstmals durch Fermi ausgenutzt, wurde durch Metropolis weitergeführt, indem er vorschlug, nur solche Zustände bevorzugt zu betrachten, die sehr wahrscheinlich bzw. energetisch günstig sind [59]. Bei dem nach ihm benannten Metropolis Algorithmus werden erzeugte Zustände nur dann betrachtet, wenn sie zufällig nach einer Wahrscheinlichkeit $e^{-E/k_B T}$ ausgewählt werden [60].

Diese Technik wurde bereits dazu benutzt verschiedenste Lipidmembranen thermodynamisch zu betrachten [20, 19, 61, 56, 21, 62, 57]. Die Grundlagen der dabei verwendeten Modelle und deren Umsetzung soll im folgenden Abschnitt kurz erläutert werden. Sie bilden die Basis für die Erweiterung zur dynamischen Simulation von Lipidmembranen, die in dieser Arbeit vorgestellt wird.

3.2. Zwei-Zustands-Modell für Lipidmembranen

Eine zusammenfassende Darstellung des folgenden Modells ist in [16] beschrieben. Neben dem Ursprung und der Grundlagen, die in [19] und [63] zu finden sind, gibt es eine Vielzahl an Beispielen für Anwendungen in [64, 56, 21, 62, 57].

3.2.1. Modell und thermodynamisches Potential

Ziel der bekannten bereits erwähnten Modelle ist es, den Hauptübergang (fluide zu Gelphase oder flüssig-expandierte zu flüssig-kondensierter Phase) von Lipidmembranen (Bilayer oder Monolayer) zu simulieren. Im Folgenden werden deshalb Lipide, die sich in der fluiden oder flüssig-expandierten Phase befinden, als im ungeordneten Zustand und Lipide, die sich in der Gel oder flüssig-kondensierten Phase befinden, als im geordneten Zustand bezeichnet. Zur Darstellung der Lipidmembran werden die Lipide auf einem hexagonalen Gitter verteilt und können, ähnlich einem zweidimensionalen Ising-Modell, im geordneten oder ungeordneten Zustand auftreten. Diese Annahmen sind in Abbildung 3.1a) veranschaulicht. Die hexagonale Anordnung wurde durch Röntgendiffraktometrie-Messungen nachgewiesen und zeigt sich für die Gel oder flüssig-kondensierte Phase [65, 66]. Für die fluide oder flüssig-expandierte Phase lässt sich keine spezifische Ausrichtung zueinander feststellen. Beide Phasen gehen aber im Phasenübergang ineinander über, so dass zur Vereinfachung auch für die fluide oder flüssig-expandierte Phase eine hexagonale Gitterstruktur angenommen wird.

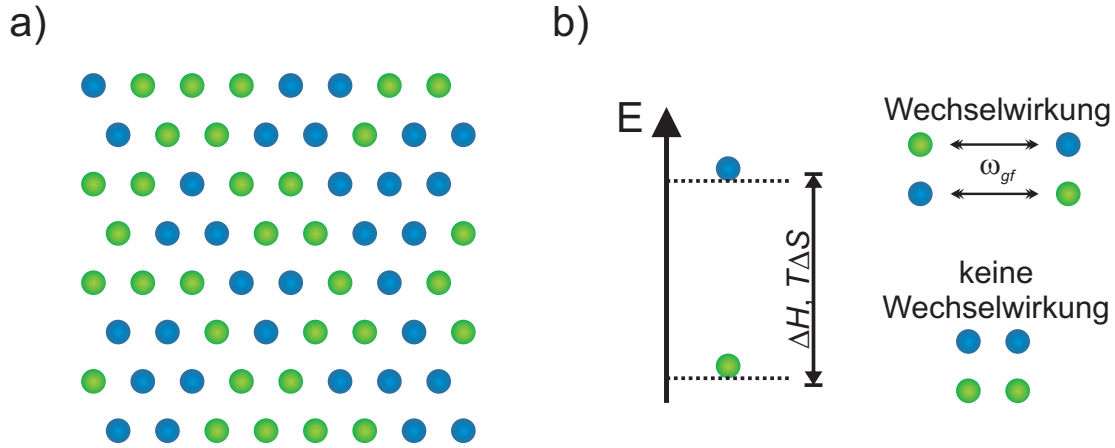


Abbildung 3.1.: Veranschaulichung des Modells zur Simulation des Hauptüberganges von Lipidmembranen. a) Die Lipide können zwei Zustände annehmen und sind auf einem hexagonalen Gitter verteilt, ähnlich zu einem zweidimensionalen Ising-Modell. b) Der ungeordnete Zustand liegt energetisch höher als der geordnete Zustand. Ungleiche, aneinander grenzende Lipide erzeugen eine zusätzliche Wechselwirkungsenergie, gleiche nicht.

In diesem Modell wird die Gibbs freie Energie G für die Berechnungen verwendet und muss deshalb zunächst bestimmt werden. Dazu werden einige simple Annahmen getroffen. Zum einen, dass ungeordnete Lipide die freie Enthalpie H_f und Entropie S_f und geordnete Lipide die freie Enthalpie H_g und Entropie S_g besitzen sollen. Zum anderen, dass nur Nächster-Nachbar-Wechselwirkungen bestehen, die für zwei wechselwirkende Lipide durch die Energien ϵ_{gg} für geordnet-geordnet, ϵ_{ff} für ungeordnet-ungeordnet und ϵ_{gf} für ungeordnet-geordnet Lipidkombinationen bestimmt sind. In einer Rechnung wird in Anhang A.4 gezeigt, dass damit für die gesamte freie Energie G des jeweiligen Systems Folgendes gilt.

$$G = G_g + n_f(\Delta H - T\Delta S) + n_{fg}\omega_{fg} \quad (3.2)$$

Dabei ist G_g die freie Energie eines System, bei dem alle Lipide im geordneten Zustand sind. n_f bzw. n_g sind die Anzahlen von ungeordneten bzw. geordneten Lipiden, n_{fg} die Anzahl von ungeordnet-geordneten Kontakten zwischen zwei benachbarten Lipiden, $\Delta H = (H_f + 3n_f\epsilon_{ff}) - (H_g + 3n_g\epsilon_{gg})$ bzw. $\Delta S = S_f - S_g$ der Enthalpie- bzw. Entropieunterschied zwischen den beiden Zuständen und $\omega_{gf} = \epsilon_{gf} - \frac{\epsilon_{gg} + \epsilon_{ff}}{2}$ ein kooperativer Parameter der Lipidwechselwirkungen (siehe Anhang A.4). Die Veranschaulichung in Abbildung 3.1b) macht nochmals deutlich, dass G nur durch die Enthalpie- und Entropiedifferenz $\Delta H - T\Delta S$ von ungeordneten zu geordneten Lipiden und dessen Wechselwirkungen untereinander, charakterisiert durch ω_{gf} , bestimmt wird.

3.2.2. Glauber-Algorithmus und Simulations-Zyklus

In Abschnitt 3.2.1 wurde die Gibbs freie Energie G für das vorgestellte Modell festgelegt, so dass nun die Wahrscheinlichkeit eines Zustandes mit Hilfe des Boltzmannkoeffizienten $e^{-G/k_B T}$ ermittelt werden kann. Die ursprüngliche Methode von Metropolis [60] ging zur Erzeugung von Zuständen dazu folgendermaßen vor: Ausgangspunkt war stets ein bekannter Zustand A . Dieser wurde modifiziert zu Zustand B und der Unterschied der Energien von A und B , hier ΔG , berechnet. Die Wahrscheinlichkeit von Zustand A nach Zustand B zu wechseln, wurde nun durch $P = e^{-\Delta G/k_B T}$ definiert. Abhängig von P entschied eine Zufallszahl ob A oder B der neue Zustand sein sollte. Mit dem neuen Zustand wurde derselbe Vorgang wiederholt, so dass eine Reihe von Zuständen erzeugt wurde, in der stets energetisch günstige Zustände häufiger auftraten, entsprechend ihrer Gewichtung nach dem Boltzmann-Koeffizienten.

Diese ursprüngliche Definition von P durch Metropolis liefert keine normierte Wahrscheinlichkeitsverteilung. Sprich, P kann Werte größer als eins annehmen. Deshalb wird für Monte Carlo Simulationen meist der Glauber-Algorithmus, der eine alternative Definition von P verwendet, genutzt. Wiederum wird von einem Zustand A ausgehend Zustand B erzeugt und die energetische Differenz ΔG zwischen beiden berechnet. Die Wahrscheinlichkeit für A (P_A) und B (P_B) wird wie folgt definiert.

$$K = e^{-\Delta G/k_B T}$$

$$P_A = \frac{1}{1 + K} \text{ und } P_B = \frac{K}{1 + K} \quad (3.3)$$

So wird erreicht, dass stets Zustand A oder B möglich ist und die Summe ihrer Wahrscheinlichkeiten auf eins normiert ist, gleichzeitig aber energetisch günstige Zustände bevorzugt werden. Für die spezifische Anwendung auf das zuvor definierte Lipidmembran-Modell aus Abbildung 3.1, zeigt Abbildung 3.2 den Ablauf eines Zyklus zur Erzeugung einer Reihe von Zuständen.

Aus dem hexagonalen Gitter wird zufällig ein Lipid ausgewählt. Im Anschluss wird die Energiedifferenz berechnet, die besteht, wenn dieses Lipid seinen Zustand wechselt (von ungeordnet zu geordnet oder umgekehrt). Dazu wird Gleichung 3.2 verwendet:

$$\Delta G = (\Delta H - T\Delta S) + \Delta n_{fg} \omega_{fg} \quad (3.4)$$

Hier ist $(\Delta H - T\Delta S)$ positiv, wird von geordnet nach ungeordnet gewechselt, dagegen negativ, wird von ungeordnet nach geordnet gewechselt. Δn_{fg} ist die Anzahl der beim Wechsel des Zustandes entstehenden Änderungen der ungeordnet-geordnet Kontakte zu den sechs angrenzenden Lipiden. ΔG erlaubt jetzt die Berechnung von P_B nach Gleichung 3.3. Eine Zufallszahl $0 < k < 1$ entscheidet ob das gewählte Lipid seinen

Zustand wechselt ($k < P_B$) oder nicht ($k > P_B$). Damit ist ein neuer Zustand des gesamten Gitters erzeugt (ob verändert oder nicht) und die Gibbs freie Energie G_{alt} des Ausgangszustandes wird benutzt um die des Neuen zu berechnen: $G_{neu} = G_{alt} + \Delta G$. Der neue Zustand kann jetzt verwendet werden um wiederum nach dem selben Schema als Ausgangszustand eines neuen Zyklus zu dienen.

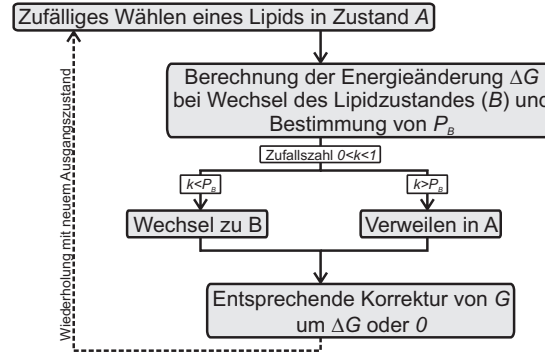


Abbildung 3.2.: Ablaufdiagramm eines Simulations-Zyklus zur Erzeugung einer Reihe von Zuständen. Aus dem hexagonalen Gitter (siehe Abbildung 3.1) wird ein Lipid zufällig ausgewählt und die Wahrscheinlichkeit bestimmt, dass dieses seinen Zustand (von ungeordnet zu geordnet oder umgekehrt) wechselt. Damit werden nach und nach eine Reihe an globalen Zuständen des gesamten Gitters erzeugt, derer Gibbs freie Energie G gleichzeitig berechnet wird.

Hier sei noch erwähnt, dass, um die Erzeugung der Kette von Zuständen zu beginnen, die Gibbs freie Energie G eines kompletten Zustandes ermittelt werden kann. Geht man von einem komplett geordneten Zustand aus, wäre dies z.B. G_g . Genau so ist es aber möglich, willkürlich für den ersten Zustand $G = 0$ zu setzen, da, wie Abschnitt 3.2.3 zeigen wird, berechenbare Größen dadurch nicht beeinflusst werden.

3.2.3. Thermodynamische Größen und Bestimmung von Parametern

Geht man davon aus, dass tatsächlich eine Reihe von Zuständen erzeugt wurde (Abschnitt 3.2.2), ist es wünschenswert aus diesen tatsächliche physikalische Größen, wie die Wärmekapazität des Systems, zu berechnen. Kennt man den Mittelwert des entsprechenden Potentials, ist das mit Hilfe von Abschnitt 2.3 folgend möglich. Für jeden Zustand i , des gesamten Systems, kennt man die Gibbs freie Energie G_i , damit aber auch H_i oder F_i . Der statistische Mittelwert der Enthalpien H_i ist deshalb gegeben durch:

$$\langle H \rangle = \sum_i H_i \frac{e^{-G_i/k_B T}}{\sum_j e^{-G_j/k_B T}} \quad (3.5)$$

3.2. Zwei-Zustands-Modell für Lipidmembranen

$\frac{e^{-G_i/k_B T}}{\sum_j e^{-G_j/k_B T}}$ stellt im wesentlichen die Wahrscheinlichkeit des Zustandes i dar, mit der die Werte der Enthalpie H_i gewichtet werden. Anhang A.5 zeigt, wie sich mit $\langle H \rangle$ und $\langle H^2 \rangle$ die isobare Wärmekapazität c_π berechnen lässt:

$$\begin{aligned} c_\pi &= \left(\frac{\partial H}{\partial T} \right)_\pi = \left(\frac{\partial \langle H \rangle}{\partial T} \right)_\pi \\ &= \frac{\langle H^2 \rangle - \langle H \rangle^2}{k_B T^2} \end{aligned} \quad (3.6)$$

Das heisst die Wärmekapazität c_π ist direkt durch das Ausmaß der Fluktuationen der Enthalpie H bestimmt, die durch $\langle H^2 \rangle - \langle H \rangle^2$ quantifiziert sind.

Es bleibt abschließend noch zu klären, wie die in Abschnitt 3.2.1 definierten Parameter ΔH , ΔS und ω_{gf} bestimmt werden können, denn sie sind es, die die obigen Rechnungen überhaupt mit sinnvollen Werten füllen. Für die ersteren beiden ist dies direkt aus Messungen möglich. In Abbildung 3.3 ist die Messung eines Wärmekapazitätsprofils über den Phasenübergang skizziert. Letzterer erzeugt das deutliche Maximum. Die Fläche unter diesem entspricht dementsprechend genau der Energie oder Enthalpie ΔH , die dazu nötig ist, die Lipide vom geordneten in den ungeordneten Zustand zu bringen bzw. zu „heizen“.

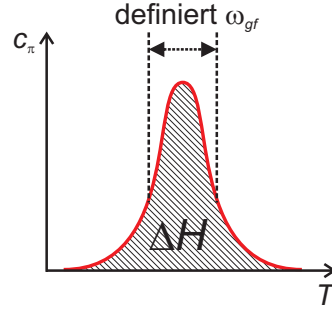


Abbildung 3.3.: Skizze zur Veranschaulichung der Parameterbestimmung in dem vorgestellten Modell. ΔH entspricht direkt der Fläche unter einer gemessenen (rot) Wärmekapazitätskurve. ω_{gf} kann durch Fit an die gemessene Kurve bestimmt werden und ist für die Breite des Profils verantwortlich.

Durch $\Delta H = \Delta Q + A\Delta\pi$ ist bei isobaren Prozessen gleichzeitig ΔS bestimmt, denn um die Phasenübergangstemperatur T_m gilt unter Verwendung von Gleichung 2.5:

$$\Delta S = \int_{T_m - \Delta}^{T_m + \Delta} \frac{c_\pi}{T} dT \approx \frac{1}{T_m} \int_{T_m - \Delta}^{T_m + \Delta} c_\pi dT = \frac{\Delta Q}{T_m} \stackrel{\text{konst. } \pi}{=} \frac{\Delta H}{T_m} \quad (3.7)$$

ω_{gf} kann schließlich durch Fit von Rechnungen an eine einzelne Messung fixiert werden. Der ermittelte Wert für ω_{gf} gilt dann für alle weiteren, modifizierten Simulationen und wird für diese nicht weiter angepasst. Daneben besteht die Möglichkeit

die Breite des Phasenübergangsmaximums, wie es in Abbildung 3.3 skizziert ist, direkt zur Berechnung von ω_{gf} zu benutzen [64].

Für DPPC Lipide ist die Parameterbestimmung bereits mehrfach durchgeführt worden. Bei den Simulationen von DPPC Monolayern in dieser Arbeit werden die Werte aus [56] adaptiert: $\omega_{fg} \approx 1187 \text{ J/mol}$ und $\Delta H \approx 36700 \text{ J/mol}$. Nicht verwendet wird die dort angegebene Phasenübergangstemperatur $T_m \approx 41,1^\circ\text{C}$, da sie für kleine Vesikel und nicht für die simulierten Monolayer bestimmt ist. Alle weiteren, später eingeführten Parameter werden daher mit Hilfe von Messungen an DPPC-Monolayern bestimmt.

3.3. Dynamische Erweiterung des Zwei-Zustands-Modells

Die Anwendung des in Abschnitt 3.2 vorgestellten Modells ist unspezifisch sowohl für Mono- als auch Bilayer möglich. Es soll nun dynamisch erweitert und zur Simulation von Monolayer Isothermen benutzt werden.

3.3.1. Einführung des Oberflächendrucks durch Federn

Interpretiert man Gleichung 3.4 im Sinne der thermodynamischen Potentiale aus Abschnitt 2.3 so lässt sich die Energie, die durch Änderungen des Oberflächendrucks eines Lipides entsteht, separieren. Diese ist im Fall eines Monolayers nicht mehr konstant. Da $\Delta H = \Delta Q + A\Delta\pi$, ergibt sich:

$$\begin{aligned} \Delta G &= \Delta H - T\Delta S + \Delta n_{fg}\omega_{fg} \stackrel{\text{Gleichung 3.7}}{\approx} \Delta H - T\frac{\Delta Q}{T_m} + \Delta n_{fg}\omega_{fg} \\ &= \Delta Q\left(1 - \frac{T}{T_m}\right) + \Delta n_{fg}\omega_{fg} + A\Delta\pi \end{aligned} \quad (3.8)$$

Die Oberflächenenergie $A\Delta\pi$ wird durch die Wechselwirkung der Kohlenwasserstoffketten untereinander erzeugt und entspricht der Oberflächenenergieänderung eines Zustandswechsels des gewählten Lipides. Um sie in das Zwei-Zustand-Modell zu integrieren können den Lipidzuständen Flächen zugeordnet werden und für verschiedene Druckänderungen $\Delta\pi$ betrachtet werden. So wurde es beispielsweise in [20] oder [55] gemacht, in denen die Lipide starr auf dem Gitter verankert blieben (vgl. Abbildung 3.1). Um die dynamische Bewegung der Lipide zusätzlich mit einzubeziehen, wird hier das starre Modell erweitert:

- Die Lipide auf den Gitterplätzen besitzen jeweils einen Satz von sechs Federn (harmonische Potentiale) und sind hexagonal miteinander verbunden.

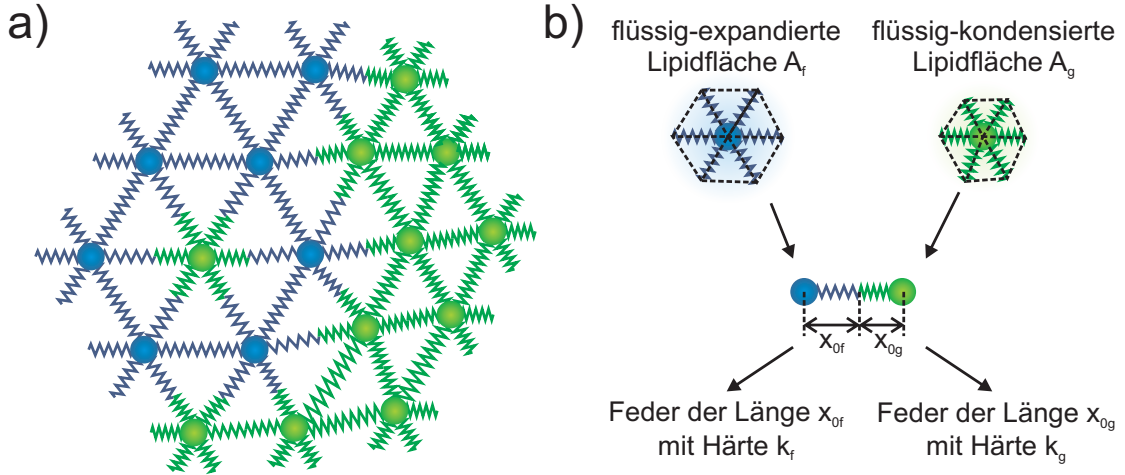


Abbildung 3.4.: Erweiterung des starren hexagonalen Modells durch Einführung von Federn. a) Alle Lipide sind auf frei beweglichen Gitterplätzen, die durch Federn (harmonische Potentiale) miteinander verbunden sind. b) Die Lipidflächen werden durch die Ruhelängen der Federn dargestellt. Die Lipidkompressibilitäten durch die Federhärten.

- Die Gitterplätze der Lipide sind, den Federkräften folgend, beweglich.
- Die gesamte Energie der Federn E_{Feder} entspricht der gesamten Oberflächenenergie $A\pi$.
- Die Fläche die durch die sechs Federn eines Lipids aufgespannt wird entspricht der Fläche A des Lipids selbst.

Das dynamische Modell nach diesen Definitionen, ist in Abbildung 3.4a) dargestellt. Es ist skizziert, dass sich durch die Beweglichkeit der Lipide das Federgitter selbst verzerren kann. In 3.4b) ist zu sehen, wie die Federlängen die Fläche eines Lipids definieren. Dass der geordnete (g) und der ungeordnete (f) Zustand eines Lipids unterschiedlich viel Fläche A_g und A_f einnehmen ($A_g < A_f$), wird durch die unterschiedlichen Ruhelängen x_{0g} und x_{0f} der Federn wiedergespiegelt. Die unterschiedlichen Kompressibilitäten κ_g und κ_f ($\kappa_g < \kappa_f$) werden durch unterschiedliche Federhärten k_g und k_f umgesetzt.

Sowohl Lipidflächen als auch Kompressibilitäten lassen sich einfach mit den Parametern der Federn verknüpfen. Durch die Federn wird in der Ruhelänge x_0 ein Sechseck bestehend aus sechs gleichseitigen Dreiecken aufgespannt. Wenn A_0 die Ruhefläche des entsprechenden Lipids ist, ergibt sich daraus:

$$A_0 = \frac{3\sqrt{3}x_0^2}{2} \Leftrightarrow x_0 = \sqrt{\frac{2A_0}{3\sqrt{3}}} \quad (3.9)$$

Um die Federhärten zu ermitteln, wird einfach die abgegebene Energie bei der Expansion der Fläche A_0 eines Lipids um ΔA betrachtet. Diese ist, ausgehend von der Definition der Kompressibilität (siehe Gleichung 2.6), gegeben durch $\frac{1}{2\kappa} \frac{\Delta A^2}{A_0}$. Im Modell werden die Federn bei der Expansion alle um eine Länge Δx , von x_0 aus, gestreckt, nimmt man eine gleichmäßige Vergrößerung an. Dies entspricht einer Energieänderung um $3k\Delta x^2$, wobei k die Federhärte ist. In Anhang A.6 wird gezeigt, wie sich durch Gleichsetzen der Energien ein Zusammenhang zwischen κ und k ergibt:

$$k = \frac{\sqrt{3}}{\kappa} \left(1 + \frac{\Delta x}{x_0} + \frac{\Delta x^2}{4x_0^2} \right) \quad (3.10)$$

Für bekanntes A_f , A_g , κ_f und κ_g ist somit die Federenergie des Systems eindeutig bestimmt. Gleichung 3.10 zeigt zudem, dass k von der Änderung Δx selbst abhängt. Diese Korrekturterme werden in den folgenden Simulationen mit berücksichtigt, sind aber für kleine Δx vernachlässigbar.

Zur Berechnung von $A\Delta\pi$ (in ΔG) müssen nun zusätzlich die Federenergien miteinbezogen werden, weil sich für ein betrachtetes Lipid, bei einem Zustandswechsel, sowohl die Federruhelängen als auch die Federkonstanten ändern. Jede Verbindung zweier Lipide wird hierfür einzeln betrachtet. Ist ein Lipid 1 (Ausgangszustand: Federkonstante $k_{1/alt}$, Ruhelänge $x_{1/alt0}$) mit Lipid i (Federkonstante k_i , Ruhelänge x_{i0}) verbunden (Abstand der Lipide: x_{1-i}), wird die gemeinsame Federkonstante durch $k_{i/gemeinsam/alt} = \left(\frac{1}{k_{1/alt}} + \frac{1}{k_i} \right)^{-1}$ bestimmt. Bei einer Änderung des Zustandes von Lipid 1 (Änderungszustand: Federkonstante $k_{1/neu}$, Ruhelänge $x_{1/neu0}$), ergibt sich eine neue gemeinsame Federkonstante $k_{i/gemeinsam/neu} = \left(\frac{1}{k_{1/neu}} + \frac{1}{k_i} \right)^{-1}$. Die gesamte Federenergieänderung ΔE_{Feder} , die sich Lipid 1 mit seinen Nachbarlipiden teilt, wird nun folgendermaßen berechnet.

$$\begin{aligned} \Delta E_{1-i} &= \frac{1}{2} k_{i/gemeinsam/alt} (x_{1-i} - x_{1/alt0} - x_{i0})^2 \\ &\quad - \frac{1}{2} k_{i/gemeinsam/neu} (x_{1-i} - x_{1/neu0} - x_{i0})^2 \\ \Rightarrow \Delta E_{Feder} &= \sum_{i:Nachbarn} \Delta E_{1-i} \end{aligned} \quad (3.11)$$

ΔE_{Feder} würde bei einer vollständigen Relaxation aller beteiligten Federn in ihr neues Gleichgewicht entstehen. Während dieser Relaxation würden sich die Federenergien sowohl von Lipid 1 als auch seiner sechs umgebenden Nachbarn verändern. Es soll aber zu keinerlei Änderung der umgebenden Lipide und damit Relaxation deren Federn während des Zustandswechsels von Lipid 1 kommen. Deshalb wird näherungsweise nur die halbe Federenergieänderung $\frac{\Delta E_{Feder}}{2} \approx A\Delta\pi$ der Oberflächenenergieänderung durch Lipid 1 zugeordnet.

Zur endgültigen Bestimmung von ΔG nach Gleichung 3.8 muss noch ΔQ ermittelt werden. In Abschnitt 3.2.3 wird für DPPC $\Delta H = \Delta Q + A\Delta\pi \approx 36700 \text{ J/mol}$ angegeben, wobei dieses ΔH bei näherungsweise konstantem π ermittelt wurde ($\Rightarrow \Delta\pi \approx 0$). Deshalb wird angenommen, dass $\Delta H \approx \Delta Q \approx 36700 \text{ J/mol}$. ΔG kann damit in folgender Form dargestellt werden.

$$\Delta G = \Delta H \left(1 - \frac{T}{T_m}\right) + \Delta n_{fg} \omega_{fg} + \frac{\Delta E_{Feder}}{2} \quad (3.12)$$

3.3.2. Erweiterung des Simulations-Zyklus

In Abschnitt 3.2.2 wird ein Simulationzyklus definiert, der nur den Wechsel des Lipidzustandes erlaubt. Dieser kann, unter Einbezug der Federenergien, übernommen werden, wird hier aber dadurch erweitert, den Gitterplätzen der Lipide die Möglichkeit zu geben sich zu bewegen. Die Grundidee dazu ist, jedem Zyklus ein Zeitäquivalent δ zuzuordnen, das dazu benutzt wird die Kräfte der Federn in Bewegungen umzurechnen. Abbildung 3.5 zeigt den dazu verwendeten erweiterten Simulations-Zyklus. Dieser wird einfach durch einen zweiten Weg ergänzt, der nach der zufälligen Wahl des Lipides eingeschlagen werden kann. Durch eine Zufallszahl $k \in [0; 1]$ wird entschieden ob für, $k < 0,5$ der bereits bekannte Zyklus durchlaufen wird (siehe Abbildung 3.2), oder ob ein Zyklus durchlaufen wird, in dem die Gitterplätze der Lipide bewegt werden.

Bei der Bewegung eines Lipidplatzes wird zunächst die Kraft \vec{F} auf ihn bestimmt, indem die Kräfte $k(|\vec{\Delta x}| - x_0)$ aller angrenzenden Federpaare vektoriell aufaddiert werden ($\vec{\Delta x}$ entspricht hier dem Abstand jeweils zweier Lipide). Daraus lässt sich die Beschleunigung, die das Lipid der Masse m erfährt, ableiten: $\vec{a} = \frac{\vec{F}}{m} - c_R \vec{v}_{alt}$. Eine Reibungskonstante c_R widerspiegelt zum einen „natürliche“ Reibung, die beispielsweise durch viskose Kopplung an die Wassersubphase entstehen kann. Zum anderen kompensiert sie die Energie die durch die Verwendung eines diskreten Zeitäquivalents δ entstehen kann, wie es in Anhang B.3 näher diskutiert wird. Die neue Geschwindigkeit \vec{v}_{neu} und neue Position \vec{x}_{neu} des Lipids, werden unter Verwendung der Ausgangswerte \vec{v}_{alt} und \vec{x}_{alt} mit Hilfe des Zeitäquivalentes δ berechnet.

$$\begin{aligned} \vec{a} &= \frac{\vec{F}}{m} - c_R \vec{v}_{alt} \\ \vec{v}_{neu} &= \vec{v}_{alt} + \vec{a} \delta \\ \vec{x}_{neu} &= \vec{x}_{alt} + \vec{v}_{alt} \delta + \frac{1}{2} \vec{a} \delta^2 \end{aligned} \quad (3.13)$$

Durch das Bewegen der Lipide entsteht zudem eine Federenergieänderung ΔE_{Feder} die sich durch Aufsummieren der Energien $\frac{1}{2}k(|\vec{\Delta x}_{alt}| - x_0)^2 - \frac{1}{2}k(|\vec{\Delta x}_{neu}| - x_0)^2$ zu allen sechs

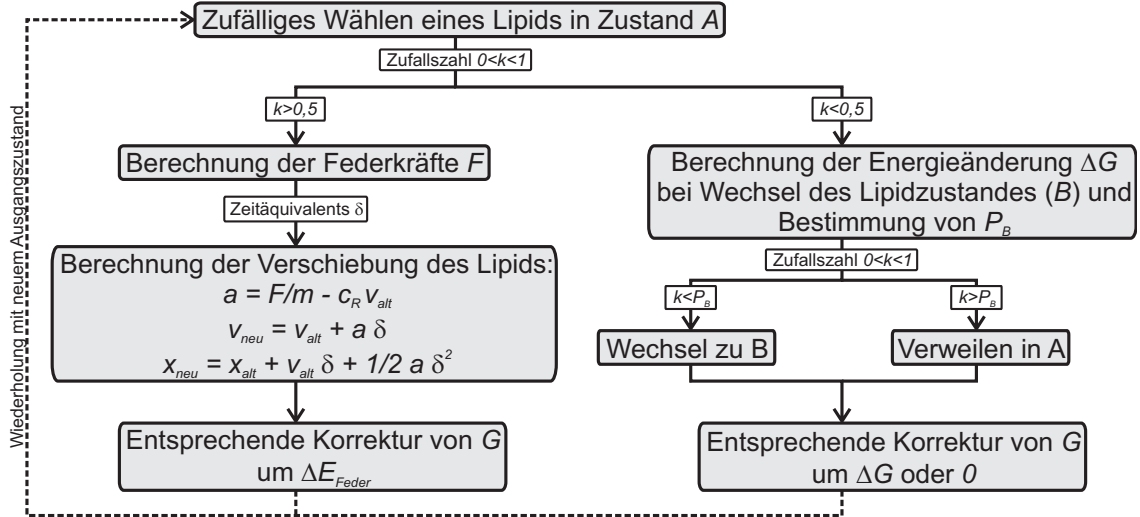


Abbildung 3.5.: Erweiterter Simulations-Zyklus zur Erzeugung einer Reihe von Zuständen. Eine erste Zufallszahl entscheidet, ob ein möglicher Wechsel des Zustandes des zufällig gewählten Lipids durchgeführt wird (Abbildung 3.2), oder das Lipid entsprechend seiner Federkräfte bewegt werden soll. Im letzteren Fall wird zunächst die Masse m des Lipids und die Kräfte F auf es, dazu benutzt seine Beschleunigung $a = \frac{F}{m} - c_R v_{alt}$ zu berechnen, wobei eine Reibungskonstante c_R miteinbezogen wird. Durch Benutzung des Zeitäquivalents δ werden nun die neue Geschwindigkeit $v_{neu} = v_{alt} + a\delta$ und die neue Position $x_{neu} = x_{alt} + v_{alt}\delta + \frac{1}{2}a\delta^2$ berechnet.

angrenzenden Lipiden ergibt ($\vec{\Delta x}_{alt}$ und $\vec{\Delta x}_{neu}$ entsprechen den Lipidabständen vor und nach ihrer Bewegung). Durch konsequentes aufsummieren aller ΔE_{Feder} (auch der die in Abschnitt 3.3.1 beschrieben sind) lässt sich abschließend die gesamte Federenergie E_{Feder} berechnen. Sie entspricht der gesamten Oberflächenenergie πA , so dass sich bei bekannter Fläche A der Oberflächendruck $\pi = \frac{E_{Feder}}{A}$ berechnen lässt. Die durchschnittliche Gesamtfläche A ist durch die einzelnen Lipidflächen bestimmt. Letztere sind implizit durch die Lipidabstände gegeben und können damit, wie in Anhang A.7 gezeigt, berechnet werden.

3.3.3. Implementierung des Modells als Computer-Programm

Das vorgestellte erweiterte Modell wird nun als Computer-Programm implementiert. Um eine möglichst hohe Effizienz des Programmcodes zu garantieren wird dies mit Hilfe der Programmiersprache C/C++ umgesetzt. Alle Simulationen dieser Arbeit wurden auf einem herkömmlichen *Home-PC* (Intel i7 3 GHz) durchgeführt, der durch seine Multi-Prozessor-Architektur die Ausführung mehrerer Instanzen gleichzeitig erlaubt. Das erstellte Programm unterteilt sich in zwei parallel ablaufende Teile. Zum einen die eigentliche Simulation die das beschriebene Modell beinhaltet. Zum anderen die grafische Darstellung des Lipidgitters. Die Aufteilung ist in Abbildung 3.6 dargestellt.

3.3. Dynamische Erweiterung des Zwei-Zustands-Modells

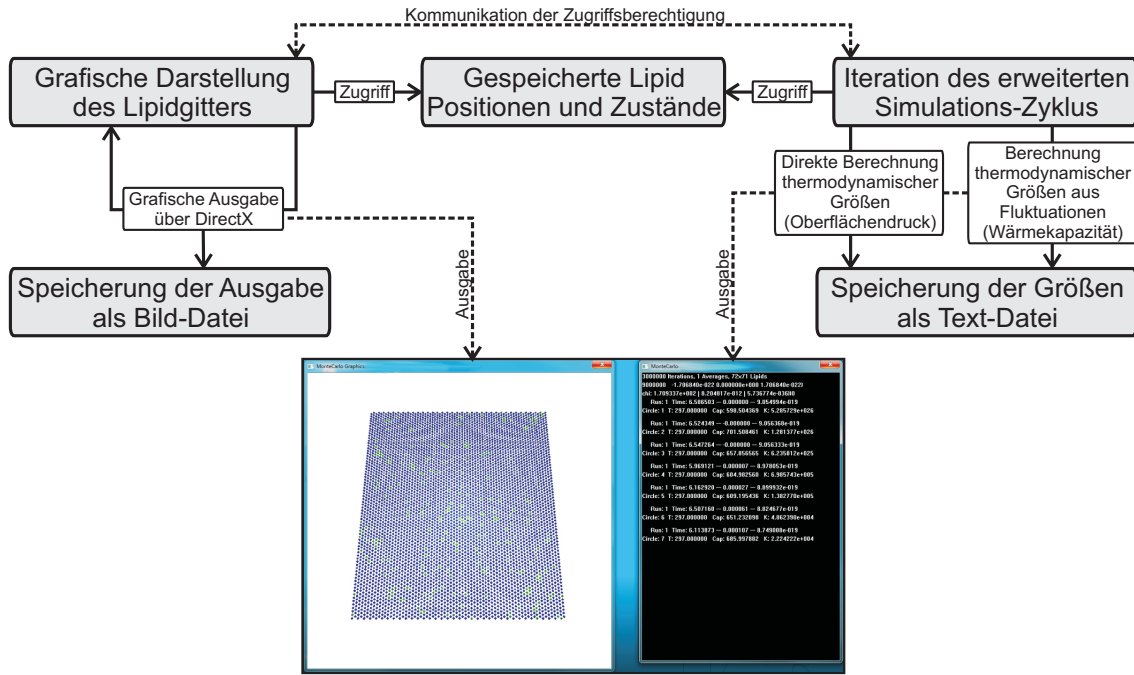


Abbildung 3.6.: Das verwendete Computer-Programm wird in zwei parallel ablaufende Teile aufgegliedert. Zum einen in die Berechnung der eigentlichen Simulations-Zyklen, zum anderen in die Grafische Ausgabe und Darstellung. Letztere wird mit Hilfe der Schnittstelle DirectX umgesetzt. Während des Ablaufs einer Simulation werden sowohl das Lipidgitternetz, als auch die ermittelten thermodynamischen Größen dargestellt. Beides wird zur weiteren Analyse als Bild- oder Text-Datei gespeichert.

Der Simulationzyklus hat bei der Ausführung höchste Priorität. Er hat Zugriff auf den Speicher, in dem sowohl Lipid-Zustände als auch Positionen abgespeichert sind, die er auslesen und bearbeiten kann. Thermodynamische Potentiale und Federenergien werden nach einer vordefinierten Anzahl von Iterationen dazu verwendet thermodynamische Größen (meist Wärmekapazität und Oberflächendruck) zu berechnen, darzustellen und abzuspeichern, um so den schrittweisen Verlauf des Systems später weiter analysieren zu können. Der grafische Teil des Programms hat dagegen eine sehr niedrige Priorität und greift deshalb nur selten auf den Speicher der Lipidzustände und Positionen zu. Er kann diese nur auslesen um sie anschließend mit Hilfe der Schnittstelle DirectX in einem dreidimensionalen Lipidgitternetz darzustellen. Die Verwendung von DirectX ermöglicht sowohl die sofortige grafische Ausgabe zur Laufzeit, als auch die Speicherung der Bildinformationen in einer Datei. Grafischer Teil und Simulationsteil des Programms kommunizieren untereinander die Zugriffsberechtigung auf den gemeinsam genutzten Speicher um gleichzeitige Zugriffe zu vermeiden.

Die wichtigsten Funktionen und der Hauptteil des Simulationszyklus sind in Anhang B.4 abgedruckt, um die direkte Umsetzung des beschriebenen Algorithmus zu veranschaulichen. Die grafische Ausgabe basiert auf einer zuvor entwickelten Darstellungsbibliothek, deren Grundfunktionalität auf der Internetseite <http://www.cheaterjoe.de> oder <http://www.griesbauer.org> erläutert ist und hier nicht weiter ausgeführt wird. Für jede durchgeführte Simulation, werden die entsprechenden Parameter direkt im Quellcode modifiziert und ein neues Programm kompiliert. Dadurch wird eine größtmögliche Flexibilität und Leistungsfähigkeit der Programme garantiert.

3.3.4. Implementierung von Monolayer-Isothermen

Zur Simulation von Monolayer-Isothermen muss das beschriebene Modell und Programm entsprechend angepasst werden.

Um Randeffekte zu vermeiden, werden zirkulare Randbedingungen implementiert. Dies geschieht durch Vergrößerung des simulierten Lipidgitters um jeweils eine Lipidreihe an jeder Seite. Die angefügten Lipidreihen spiegeln die jeweils letzte Lipidreihen des tatsächlich zu simulierenden Lipidgitters, sowohl in Zustand als auch in Position, werden aber nicht in den Simulations-Zyklus miteinbezogen.

Für die Federn der Lipide im Monolayer wird weiter angenommen, dass sie nur komprimierbar sind. Das heisst, dass sobald eine Feder über ihre Ruhelänge hinaus expandiert wird, sie keinerlei Kraft mehr auf das jeweilige Lipid ausübt. Dies spiegelt wider, dass Monolayerlipide keine geschlossene, elastische Platte ausbilden, solange sie nicht durch eine äußere Kraft (beispielsweise durch eine Barriere) in Kontakt zueinander gebracht und komprimiert werden. Für die Simulation eines Bilayers (siehe Abschnitt 3.7) ist diese Zusatzbedingung nicht nötig, da dieser (beispielsweise in Form eines Vesikels) ohne äußere Kompression eine inhärente Elastizität besitzt.

Zur Nachahmung des Messvorgangs für Isothermen, muss nun noch die zur Verfügung stehende Lipidfläche komprimierbar sein. Dies geschieht durch skalieren aller Lipidpositionen (auch der hinzugefügten Reihen) um einen Faktor, der kleiner als eins ist. Da die Gitterpositionen punktsymmetrisch um den Ursprung angeordnet sind, wird damit der durchschnittliche Abstand der Lipide untereinander verringert, wodurch eine Kompression erzeugt wird. Im Laufe einer Simulation werden mehrere Kompressionsstufen eingestellt, um die gleichmäßige Flächenverkleinerung, die bei der Messung einer Isothermen durchgeführt wird, nachzuahmen. Jede Stufe wird über eine möglichst große Anzahl von Iterationen equilibriert, bevor anschließend die gewünschten Größen, wie Oberflächendruck oder Wärmekapazität, berechnet und abgespeichert werden. Aus der Reihe dieser Werte lässt sich die Isotherme rekonstruieren.

3.4. Parameterbestimmung

Um eine zu Messungen vergleichbare Simulation durchzuführen, müssen zunächst alle Parameter des Modells bestimmt werden. Dazu zählen Lipidflächen und Kompressibilitäten, aber auch die Festlegung des Zeitäquivalents zusammen mit der Reibungskonstante. Im Folgenden sollen alle nötigen Parameter zur Simulation von DPPC-Monolayer-Isothermen bestimmt werden.

3.4.1. Lipidparameter für DPPC

Zur eigentlichen Durchführung erster Simulationen, müssen die elastischen Lipidparameter, also die Lipidfläche des geordneten Zustands A_g , des ungeordneten Zustands A_f und die entsprechenden Kompressibilitäten κ_g und κ_f , festgelegt werden. Dies geschieht mit Hilfe von DPPC-Monolayer-Isothermen.

Wie bereits in Abschnitt 2.4.2 erläutert, lässt sich die Phase eines Monolayers auch durch die Temperatur beeinflussen. Kühlt man während einer Isothermen-Messung sehr stark ab, so verschwindet der Phasenübergang und nur die flüssig-kondensierte Phase ist erkennbar. Das bedeutet, bei einer solchen Isotherme, sind fast ausschließlich Lipide im geordneten Zustand beteiligt. Gleichermäßen sind Lipide, die an Isothermen bei sehr hohen Temperaturen beteiligt sind, großteils im ungeordneten Zustand. Abbildung 3.7 zeigt zwei solche Isothermen eines DPPC-Monolayers, bei sehr hoher (42°C) und sehr niedriger (3°C) Temperatur.

Bis zu dem Punkt des ersten Anstiegs der Isothermenkurven sind die Lipide noch in der gasanalogen Phase und wechselwirken nur sehr wenig oder gar nicht. Erst wenn die Fläche, die die Lipide belegen, der Fläche die durch die Filmwaage zur Verfügung gestellt wird, entspricht, beginnt der Oberflächendruck $\pi(A)$ merklich zu steigen. Das erlaubt es die Flächen des ersten Druckanstiegs den Lipidflächen selbst zuzuordnen. Da der Zustand der Lipide während den Isothermen aus Abbildung 3.7 durch die extremen Temperaturen ohnehin vorgegeben werden, entsprechen dort die Flächen der ersten Druckanstiege den Lipidflächen des entsprechenden Zustandes. Für den geordneten Zustand ergibt sich $A_g = 52\text{\AA}^2$, für den ungeordneten Zustand $A_f = 90\text{\AA}^2$. Röntgenbeugungsmessungen in [67], die für den komplett geordneten Zustand von DPPC eine Fläche von 48\AA^2 erwarten lassen, entsprechen dem hier ermittelten Wert sehr gut. Die Abschätzung, dass der ungeordnete Zustand ca. 25% mehr Fläche als der geordnete belegt [16], was in etwa 65\AA^2 entsprechen würde, liefert hier keinen befriedigenden Vergleichswert. Das ist im wesentlichen auf die Natur der flüssig-expandierten Phase bei Lipid-Monolayern zurückzuführen. Während der flüssig-expandierten Phase eines Monolayers liegen viele Kohlenwasserstoffketten der Lipide flach auf der Wasseroberfläche. Dadurch belegen die Lipide, während dieser

Phase, mehr Fläche auf der Wasseroberfläche als sie eigentlich benötigen. Dieser Effekt wird als *Free-Volume*-Effekt bezeichnet und wurde bereits explizit in Monte Carlo Simulationen behandelt [55]. Er erklärt das flache Ansteigen der DPPC-Isotherme während der flüssig-expandierten Phase. Um dies in den vorliegenden Simulationen mitzuberechnen wird deshalb die vergleichsweise große Fläche von $A_f = 90 \text{ \AA}^2$ gewählt. Damit werden die *Free-Volume*-Effekte bestmöglichst mitberücksichtigt. Mit den Größen $A_g = 52 \text{ \AA}^2$ und $A_f = 90 \text{ \AA}^2$ werden nach Gleichung 3.9 die Ruhelängen der Federn des Simulations-Modells bestimmt.

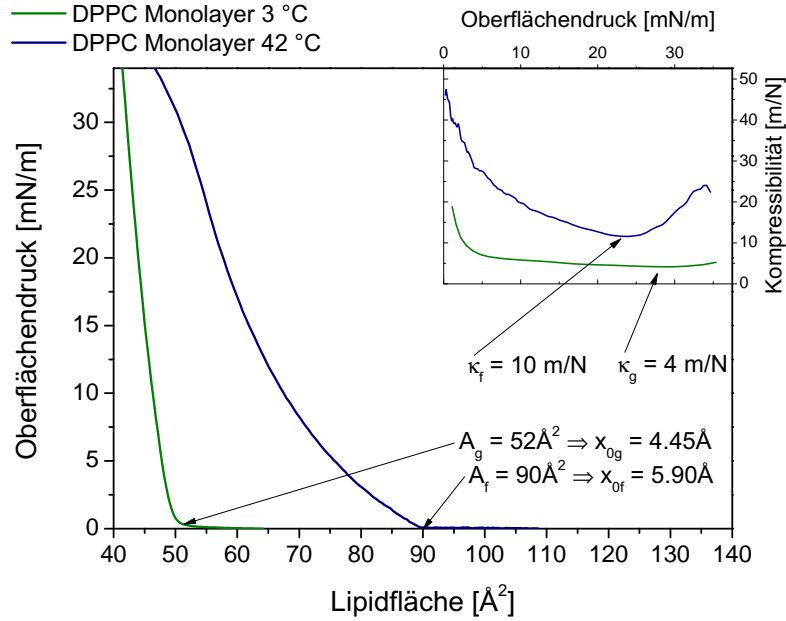


Abbildung 3.7.: Isothermen eines DPPC-Monolayers bei zwei verschiedenen Temperaturen zur Parameterbestimmung für folgende Simulationen. Während der Isotherme bei 3 °C sind die Lipide groÙtenteils geordnet, bei 42 °C groÙtenteils ungeordnet. Dementsprechend werden die Flächen des ersten Anstiegs der Isothermen den jeweiligen Lipidflächen A_g und A_f zugeordnet. Die Insets zeigen die Kompressibilitätskurven der Isothermen und werden zur Festlegung von κ_g und κ_f benutzt.

Der Inset Graph in Abbildung 3.7 zeigt die zu den Isothermenkurven gehörenden Kompressibilitäten. Die beiden Kurven lassen sich, wie zuvor, den einzelnen Zuständen zuordnen. Für den geordneten Zustand ergibt sich eine Kompressibilität κ_g die über das gesamte Kompressionsspektrum nahezu konstant bleibt. Dementsprechend ist die Festlegung von $\kappa_g = 4 \frac{\text{m}}{\text{N}}$ willkürlich. Die Kompressibilitätskurve des ungeordneten Zustands hingegen zeigt ein Minimum, das als Wert für $\kappa_f = 10 \frac{\text{m}}{\text{N}}$ gewählt wird. Diese Wahl entspricht dem Wert der Kompressibilität der am ehesten als konstant angesehen werden kann, was auch im Sinne der Federkonstantenberechnung ist, die einen konstanten Wert für κ_f voraussetzt.

Als direkt bestimmbarer Parameter bleibt zuletzt die Phasenübergangstemperatur T_m . Sie kann aus Abbildung 2.5 in Abschnitt 2.4.2 bestimmt werden und entspricht der Temperatur bei dem das horizontale Phasenübergangsplateau der Isothermen verschwindet. Unterhalb dieser Temperatur bleiben die Lipide stets im geordneten Zustand. Abbildung 2.5 zeigt, dass bei 13°C kein Phasenübergangsplateau mehr zu sehen ist, bei 15°C hingegen schon. Deshalb wird $T_m = 14^\circ\text{C}$ gewählt. Vergleichbare Literaturwerte lassen $11,8^\circ\text{C}$ [37] oder 15°C [19] erwarten und rechtfertigen den hier ermittelten Wert von $T_m = 14^\circ\text{C}$.

3.4.2. Zeitäquivalent

Mit dem Satz an Parameter aus Abschnitt 3.4.1 lassen sich erste Simulationen durchführen, wobei das Zeitäquivalent δ und die Reibungskonstante c_R noch frei wählbar sind. Erste Versuche zeigen schnell, dass zu große Werte für δ keine stabilen Simulationen ermöglichen, da die Lipide pro Zyklus zu lange Distanzen zurücklegen können und dadurch im extremsten Fall direkt auf andere Gitterplätze oder noch weiter versetzt werden. Um eine detaillierte Bestimmung von δ und c_R durchzuführen, werden deshalb simulierte Isothermen bei 24°C mit realen Messungen verglichen.

Für diese Simulationen werden zunächst Gittergrößen von 32×31 Lipiden benutzt und durchschnittlich 30000 Simulations-Zyklen pro Lipid pro Kompressionsstufe durchgeführt. Wie in Abschnitt 3.5 kurz erläutert wird, liefert letztere Wahl stabile Ergebnisse, bei der sich die resultierenden Isothermen nicht weiter mit Erhöhung der Laufzeit ändern.

Abbildung 3.8a) zeigt das Beispiel einer so simulierten DPPC-Isotherme bei 24°C zusammen mit der entsprechenden Messung. Die originalen Messdaten werden zum Vergleich mit der Simulation um einen Faktor 0,9 skaliert. Dies wird normalerweise durchgeführt um Fehler in der ermittelten Menge des auf das Wasser aufgetropften Lipids zu kompensieren und den detaillierten Vergleich zweier unterschiedlicher Experimente zu ermöglichen. Zum einen können die Ursachen für diesen Faktor 0.9 in Fehlern der Messung zur Parameterbestimmung (vgl. Abbildung 3.7) oder der Vergleichsmessungen (beispielsweise in Abbildung 3.8) liegen. Zum anderen in der Simulation selbst, die beispielsweise zusätzliche Einflüsse wie die *Free-Volume*-Effekte nicht explizit berücksichtigt. Der Skalierungsfaktor hat aber keinerlei Einfluss auf die resultierenden Kompressibilitäten (siehe Gleichung 2.6) und daher keine tiefere physikalische Bedeutung. Vergleicht man nun die skalierten Messdaten mit denen der Simulation sind eindeutige Unterschiede erkennbar. Um diese zu quantifizieren wird über die Differenz der beiden Kurven integriert wie es in Abbildung 3.8a) skizziert ist.

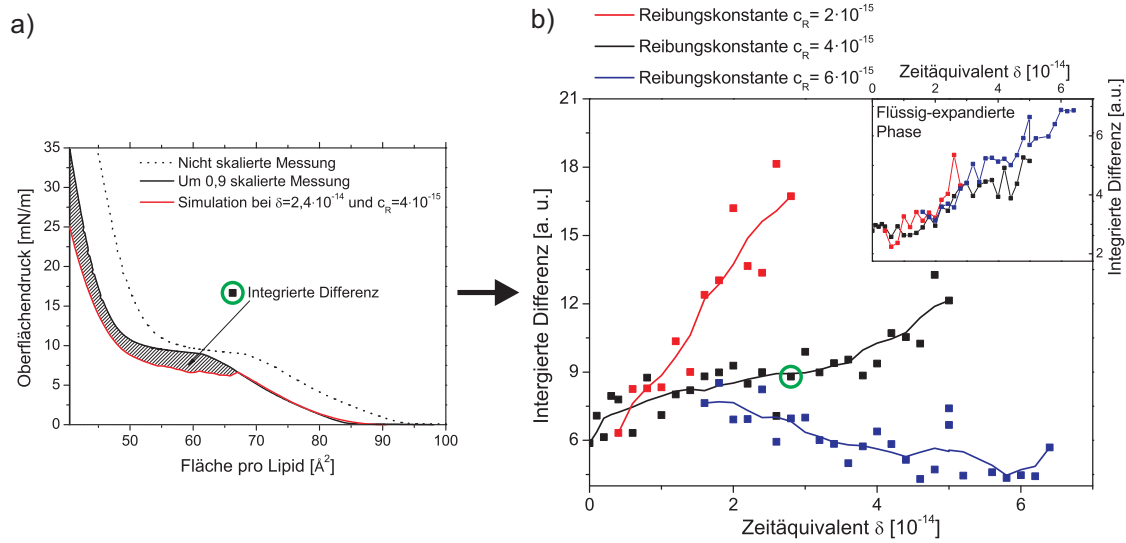


Abbildung 3.8.: a) Beispiel für eine simulierte Isotherme bei 24°C (rot) zusammen mit der entsprechenden Messung (schwarz). Die originale Messung (gestrichelt) wurde zum Vergleich mit der Simulation um einen Faktor 0,9 skaliert (durchgezogen). Diese Skalierung hat keinerlei Einfluss auf die resultierende Kompressibilität und damit den physikalischen Gehalt der Messung. Die sich ergebende Integrierte Differenz zwischen Messung und Simulation ist schraffiert. b) Reihen von Werten der Integrierten Differenz von Simulationen verschiedener Zeitäquivalente δ und Reibungskonstanten c_R . Der grün markierte Punkt entspricht dabei der in a) gezeigten, integrierten Differenz.

Die integrierten Differenzen können jetzt für eine Vielzahl von Parameterpaaren von δ und c_R ermittelt werden, wobei stets die selben Messdaten zum Vergleich herangezogen werden. Abbildung 3.8b) zeigt Reihen von Werten der integrierten Differenzen für das Zeitäquivalent δ zu drei verschiedenen Werten der Reibungskonstante c_R . Es zeigt sich, dass sich die integrierten Differenzen je nach Größe von c_R unterschiedlich entwickeln. Es ist wünschenswert, dass die Entwicklung der Differenzen mit δ möglichst flach verläuft. Dies begründet sich darin, dass genau so wie durch δ selbst, auch durch die unterschiedlichen Kompressibilitäten der Zustände, der Weg den ein Lipid in einem Simulations-Zyklus zurücklegen kann, verschieden ausfällt. Auch wenn im Phasenübergangsbereich beide Lipid-Zustände auftreten, sollte sich aber dennoch ein gleichmäßiges Simulationsverhalten ergeben. Zur Veranschaulichung zeigt das Inset in Abbildung 3.8b) die Integrierte Differenz der flüssig-expandierten Phase. Die Entwicklung nach δ ist dort für alle betrachteten c_R gleich und zeigt, dass die Schrittgröße der Bewegungen ungeordneter Lipide nicht kritisch von δ abhängt, die von geordneten dagegen sehr wohl. Deshalb muss δ so gewählt werden, dass kleine Veränderungen des Zeitäquivalents δ nur wenig unterschiedliche Simulationsergebnisse und damit integrierte Differenzen liefern. Auf der anderen Seite möchte man

die Reibungskonstante c_R möglichst klein wählen, um keine überflüssigen Reibungseffekte in das System zu bringen. Interpretiert man Abbildung 3.8b) in diesem Sinn, kann $c_R = 2 \cdot 10^{-15}$ auf Grund des steilen Verlaufes der δ -Kurve ausgeschlossen werden. Sowohl $c_R = 4 \cdot 10^{-15}$ als auch $c_R = 6 \cdot 10^{-15}$ liefern dagegen flache δ -Verläufe. Um die Reibungskonstante klein zu halten wird deshalb zunächst $c_R = 4 \cdot 10^{-15}$ gewählt. Auf der entsprechenden δ -Kurve erkennt man, dass die kleinsten integrierten Differenzen für $\delta = 0$ auftreten, was eine sinnlose Wahl ist, da sie dem Unterbinden der Lipidbewegungen entspricht. Daher wird $\delta = 2,4 \cdot 10^{-14}$ im flachsten Bereich der δ -Kurve gewählt.

Zusammenfassend wird also das Wertepaar $\delta = 2,4 \cdot 10^{-14}$ mit $c_R = 4 \cdot 10^{-15}$ (grün markierter Punkt in Abbildung 3.8) für alle folgenden Simulationen ausgewählt. Hier sei betont, dass letztere Wahl, wie in Abbildung 3.8b) zu sehen ist, keinerlei kritischen Einfluss auf die Simulation nimmt. Lediglich extreme Wertepaare liefern keine sinnvollen Simulationsergebnisse mehr. Dadurch sind die Werte von δ und c_R keine kritischen Parameter und können nahezu frei gewählt werden, solange die Wahl sich in einem sinnvollen Rahmen, wie er oben erörtert wird, bewegt.

3.5. Einfluss von Laufzeit und Gittergröße

Wie im vorangegangenen Abschnitt 3.4.2 bereits angedeutet, spielt die Anzahl der Iterationen, die pro Kompressionsstufe durchlaufen werden, eine Rolle für die thermodynamischen Größen, die ermittelt werden. Ursache dafür ist, dass sich das System, nach jeder globalen Änderung (zum Beispiel durch Kompression oder Temperaturänderung), zuerst auf sein neues Gleichgewicht einstellen muss. Dies benötigt, da sich stets nur ein Lipidzustand oder eine Lipidposition ändern kann, eine gewisse Anzahl an Iterationsschritten. Die Minimalanzahl kann durch Betrachtung der resultierenden Größen wie Oberflächendruck oder Wärmekapazität erfolgen. Ändern sich diese Werte mit zunehmender Laufzeit nicht mehr, ist diese Iterationsanzahl ausreichend. Dazu durchgeführte Simulationen zeigen, dass sich bereits ab 10000 Iterationen pro Lipid keinerlei Änderungen des Oberflächendruckes mehr ergeben. Dagegen ändert sich der Wert der Wärmekapazität bis 20000 Iterationen pro Lipid. Deshalb werden stets minimal 30000 Iterationen pro Lipid verwendet, um stabile Ergebnisse zu garantieren.

Gleichermaßen kann die Größe des Lipidgitters Einfluss auf die ermittelten Größen besitzen. Abbildung 3.9 zeigt dazu den Vergleich von Simulationen mit Gittergrößen von 101×102 oder 31×32 bei 30000 durchgeführten Iterationen pro Lipid zusammen mit den entsprechenden, gemessenen Isothermen (wie in Abschnitt 3.4.2 für den Vergleich um einen Faktor 0,9 skaliert). Tatsächlich erzeugen die verschiedenen

Gittergrößen Unterschiede und erzeugen leicht unterschiedliche Isothermenverläufe. Eine mögliche Erklärung dafür sind Domänen geordneter Lipide umgeben von ungeordneten, die während der Simulation einer Isothermen im Phasenübergangsbereich entstehen. Dieses Phänomen ist aus Experimenten bekannt und wird in Abschnitt 3.6.2 ausführlicher diskutiert. Die Domänen der Simulationen wachsen von Beginn des Phasenübergangs an und erreichen ab einer gewissen Größe die Grenzen des Simulationsgitters. Ihr Wachstum wird also durch die Gittergröße beeinflusst. Die Messung findet dagegen auf einem vergleichsweise unendlich großen Monolayer statt, was darauf hindeutet, dass unter anderem die Wahl des Simulationsgitters die Qualität der simulierten Isothermen im Vergleich zum Experiment bestimmt.

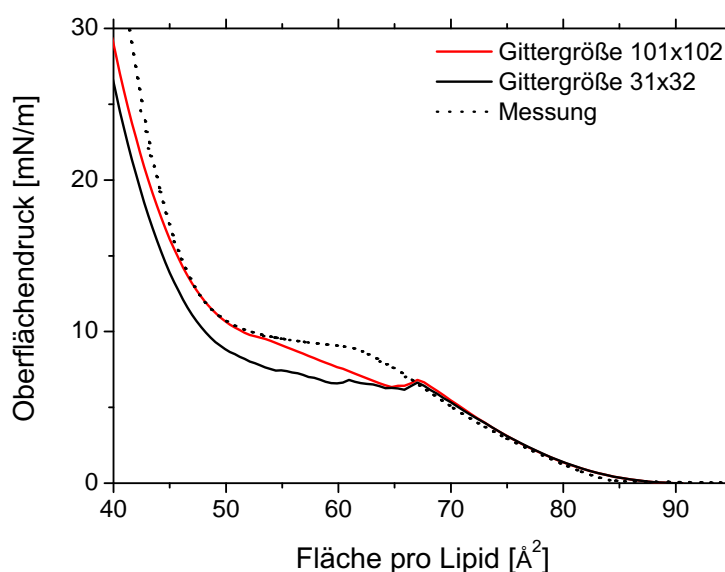


Abbildung 3.9.: Simulierte Isothermen bei verschiedenen Gittergrößen von 31×32 und 101×102 Lipiden, zusammen mit der entsprechenden Messung. Man erkennt, dass sich mit größerem Lipidgitter die Simulation besser dem tatsächlichen Messverlauf anpasst.

Da die Größe des simulierten Monolayers die benötigte Laufzeit erhöht (30000 Iterationen *pro* Lipid), sind alle folgenden Simulationen auf einem 101×102 Lipidgitter durchgeführt worden. Die benötigte Zeit zur Simulation einer Isothermen auf dem verwendeten Computersystem betrug damit etwa einen Tag.

3.6. Simulation von DPPC-Monolayer-Isothermen

Die folgenden Simulationen von DPPC-Monolayer-Isothermen, umfasst nicht nur die Betrachtung der entsprechenden $\pi(A)$ -Kurven, sondern auch die Auswertung aller

weiteren von dem implementierten, erweiterten Modell zur Verfügung gestellten Größen. Dazu zählen zusätzlich die optische Analyse des Lipidgitters und die Betrachtung der ermittelbaren Wärmekapazität. Zum Vergleich mit Messungen werden drei Isothermen-Simulationen bei drei verschiedenen Temperaturen 20°C , 24°C und 28°C herangezogen. Das benutzte System besteht aus 101×102 Lipiden, von denen jedes durchschnittlich 30000 Simulations-Iterationen pro Kompressionsstufe durchläuft.

3.6.1. Isothermen-Kurven

Abbildung 3.10 zeigt simulierte und gemessene DPPC-Monolayer-Isothermen bei den drei verschiedenen Temperaturen 20°C , 24°C und 28°C (die Messungen sind wieder um einen Faktor 0,9 skaliert, vgl. Abschnitt 3.4.2).

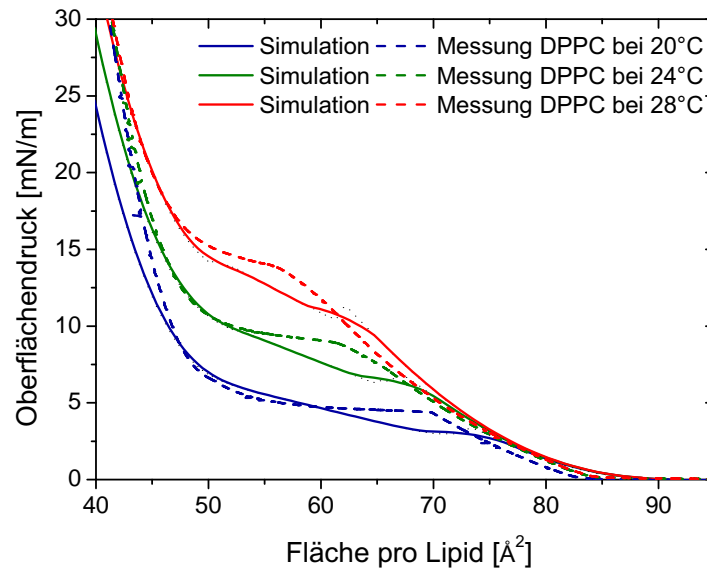


Abbildung 3.10.: Simulation und Messung von DPPC-Monolayer-Isothermen bei den drei verschiedenen Temperaturen 20°C , 24°C und 28°C . Zum Vergleich sind alle gemessenen Isothermen um einen Faktor 0,9 skaliert (vgl. Abschnitt 3.4.2). Rechnung und Experiment zeigen den selben Kurvenverlauf und die Verschiebung des Phasenübergangsplateaus mit der Temperatur.

Die Kurvenverläufe der Rechnung und des Experiments stimmen sehr gut überein. Es werden dabei keinerlei nachträgliche Anpassungen vorgenommen, da alle Simulations-Parameter zuvor festgelegt worden sind. Auf Grund der unterschiedlichen Temperaturen, entsteht in den Simulationen die selbe lineare Verschiebung des Phasenübergangs wie sie für die Isothermen von DPPC erwartet wird (siehe Abschnitt 2.4.2). Darüber hinaus kann die Länge des Phasenübergangsplateaus sehr gut reproduziert werden, obwohl zu Beginn des Phasenübergangs die größten Differenzen

zwischen Messung und Experiment zu erkennen sind. Wie in Abschnitt 3.5 bereits diskutiert, kann eine Ursache dafür die begrenzte Gittergröße der Simulationen sein, die das Domänenwachstum (näher beschrieben in Abschnitt 3.6.2) beeinflusst. Zuletzt sei noch erwähnt, dass die Phasenübergangsplateaus der Rechnungen nicht perfekt horizontal sind, was den experimentellen Beobachtungen entspricht. Simulationen von Isothermen, die nicht auf einer dynamischen Erweiterung, wie in dieser Arbeit, basieren [20, 55], erzeugen komplett horizontale Phasenübergangsverläufe. Im Falle der Simulationen in Abbildung 3.10 bedeutet das, dass die Beweglichkeit der Lipide Einfluss auf die Form der Isothermen während des Phasenübergangs nimmt. Das deutet wiederum darauf hin, dass auch im Experiment die Lipidbewegung Einfluss auf die gemessenen Isothermen nimmt. Wie in Abbildung 2.5 aus Abschnitt 2.4.2 zu sehen ist, nimmt auch dort die Steigung des Phasenübergangsplateaus mit steigender Temperatur und damit Lipidbewegung zu.

3.6.2. Domänenbildung während des Phasenübergangs

Für Lipid-Monolayer ist bekannt, dass sich während des Phasenübergangs persistente Domänen des geordneten Zustandes ausbilden, die hin zur flüssig-kondensierten Phase anwachsen und miteinander verschmelzen, bis alle Lipide den geordneten Zustand erreicht haben [68, 69, 70, 71, 72, 16]. Das selbe Phänomen lässt sich bei den simulierten Isothermen beobachten. Abbildung 3.11 zeigt jeweils drei Bilder der Lipidgitter für die Isothermen der drei Temperaturen 20°C , 24°C und 28°C .

Man erkennt, dass es bei allen Isothermen-Simulationen zur erwarteten Bildung von Domänen des geordneten Zustandes kommt. Das Lipidgitter verzerrt sich dafür so, dass geordnete Lipide näher zusammenliegen können, wohingegen ungeordnete mehr Platz bekommen. Darüber hinaus ist die Form der gebildeten Domänen abhängig von der Temperatur. So sind die Strukturen bei 20°C und 24°C länglich und umgeben zu Ende des Phasenübergangs die restlichen ungeordneten Lipide komplett. Dagegen zeigt die Simulation bei 28°C deutlich, dass sich bei dieser Temperatur nahezu perfekte Runde Domänen ausbilden, die bis zuletzt von den ungeordneten Lipiden umgeben bleiben. Diese Temperaturabhängigkeit der Domänenstruktur wurde bereits zuvor in Experimenten beobachtet und beschrieben [71, 72]. Zur Interpretation wurde meist ein Gleichgewicht der Linienspannung am Rand der Domänen und deren internem Druck, der durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen oder schlicht durch Ladungen entstehen kann, herangezogen (in einem ähnlichen Versuch konnte auf dieser Grundlage die Linienspannung von Domänen in Lipidmischungen bestimmt werden [73]). Dieses Gleichgewicht ist in den vorliegenden Simulationen implizit durch die Federwechselwirkungen und Lipidwechselwirkungen umgesetzt und zeigt wie sich so indirekt die Linienspannung der Domänen in das Simulationsmodell integriert.

Darüber hinaus sind Beeinflussungen der Domänenform durch die Chiralität der verwendeten Lipide, den pH und den Salzen der Subphase und der Kompressionsgeschwindigkeit bekannt [74, 70, 71, 72]. Diese Einflüsse könnten in das vorliegende, dynamischen Modell durch zusätzliche Annahmen eingeführt werden.

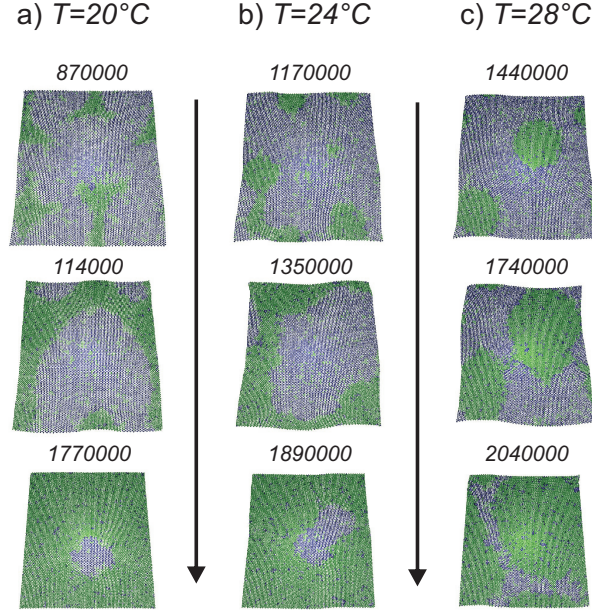


Abbildung 3.11.: Bilder der simulierten DPPC-Monolayer-Isothermen während des Phasenübergangs bei verschiedenen Temperaturen. Lipide im geordneten Zustand sind *grün* gekennzeichnet, ungeordnete *blau*. Die Zahlen über den einzelnen Bildern entsprechen der Anzahl an Iterationen pro Lipid, die bis zu diesem Zeitpunkt durchgeführt worden sind. In allen Simulationen zeigt sich die Bildung von geordneten Domänen, die von länglichen Formen ausgehend, runder werden, je höher die Temperatur ist.

3.6.3. Proportionalität von Wärmekapazität und Kompressibilität

Zuletzt können die Fluktuationen der freien Enthalpie H , die während der Simulation mit aufgezeichnet werden, dazu genutzt werden, nach Gleichung 3.6, die experimentell schwer ermittelbare Wärmekapazität c_{π} der Monolayer zu berechnen. Gleichmaßen liefern die $\pi(A)$ Kurven der Isothermen die Möglichkeit die Kompressibilität κ_T zu bestimmen. In Abschnitt 2.3 wurde bereits eine Proportionalität zwischen c_{π} und κ_T beschrieben (Gleichung 2.11), die nun genauer am Beispiel dieser Simulation untersucht werden kann. Abbildung 3.12 zeigt die entsprechenden Graphen der Wärmekapazitäten und der Kompressibilitäten für die drei simulierten Temperaturen 20°C , 24°C und 28°C .

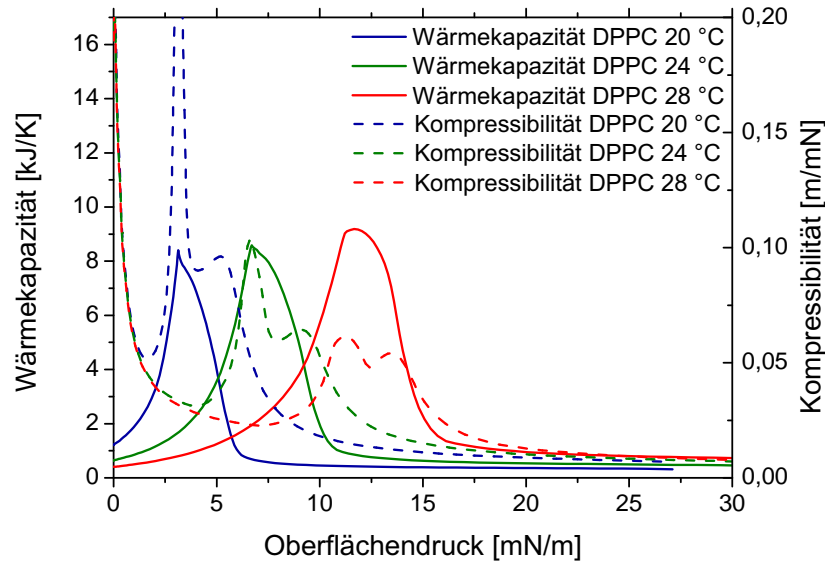


Abbildung 3.12.: Kompressibilitäten κ_T und Wärmekapazitäten c_π der simulierten DPPC-Monolayer-Isothermen bei drei verschiedenen Temperaturen 20°C , 24°C und 28°C . Es ist zu sehen, dass die Maxima von κ_T und c_π beim selben Druck liegen und die Breite der Peaks bei beiden zu höheren Temperaturen hin zunimmt. Im gleichen Zug nimmt jedoch die Peakhöhe von κ_T ab und die von c_π zu.

In Einklang mit Gleichung 2.11 zeigt sich zunächst, dass Lage und Breite der Peaks von κ_T und c_π übereinstimmen. In Anhang A.2 wird gezeigt, dass der exakte Zusammenhang durch $c_\pi = B_\pi^2 A T \kappa_T$ gegeben ist, wobei B_π eine Konstante ist (die Kennzeichnung als Überschuss-Wärmekapazität oder Kompressibilität wurde, auf Grund der ausschließlichen Betrachtung des Phasenübergangsbereiches, vernachlässigt). Im exakten Zusammenhang der Peakhöhen treten also die zusätzlichen Faktoren T und A auf. Abbildung 3.12 zeigt ein gleichzeitige Fallen der Maxima von κ_T und Steigen der Maxima von c_π mit steigender Temperatur T . Dieses Verhalten kann aus $c_\pi = B_\pi^2 A T \kappa_T$ nicht direkt abgeleitet werden. Es zeigt sich, dass, obwohl die Herleitung von $c_\pi = B_\pi^2 A T \kappa_T$ als Teil von Gleichung 2.11 sehr allgemein ist und damit generelle Gültigkeit besitzt, die detaillierten Zusammenhänge, die Experimente oder diese Simulation liefern, abweichen können. Die vorgestellten Simulationen bieten nun die Möglichkeit die Relation zwischen κ_T und c_π für Monolayer genauer zu analysieren und deuten dementsprechend darauf hin, dass zu erwarten ist, dass sich die Peakhöhen der Wärmekapazität c_π mit steigender Temperatur erhöhen und nicht wie von der Kompressibilität κ_T angedeutet, erniedrigen.

3.7. Simulation eines dynamischen experimentellen Systems

Im Rahmen der Arbeiten von J. Neumann und M. Hennig wurden Versuche durchgeführt, bei denen Lipid-Bilayer durch Oberflächenwellen auf Substraten beeinflusst wurden [75, 22, 23]. Diese Beeinflussung kann durch das beschriebene Simulationsmodell nachgeahmt und mit dem tatsächlichen Experiment verglichen werden.

3.7.1. Beeinflussung von Lipid-Bilayern durch Oberflächenwellen

Bei dem Experiment, das simuliert werden soll, wurde unter anderem aus einer Mischung von *1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin* (DOPC) und Texas-Red markierten *1,2-dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin* (DHPE) ein Bilayer auf ein LiTaO_3 -Substrat aufgebracht und durch die piezoelektrischen Eigenschaften des Substrates beeinflusst. Abbildung 3.13a) veranschaulicht das System.

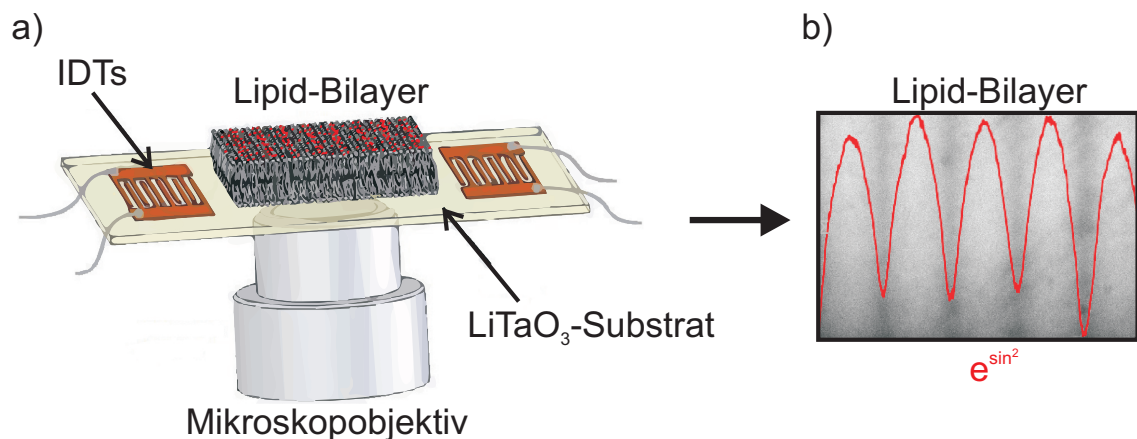


Abbildung 3.13.: a) Veranschaulichung des Experiments. Die Oberflächenwelle auf dem LiTaO_3 -Substrat (erzeugt durch mit Wechselspannung betriebenen IDT-Strukturen), überträgt sich scheinbar auf den aufgetragenen Bilayer, in dem sich deshalb die fluoreszenzmarkierten Lipide umsortieren. Das entstehende Intensitätsmuster, das mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops betrachtet werden kann, ist in b) zu sehen. Dort ist auch der Intensitätsverlauf abgebildet, der einer e^{\sin^2} -Funktion folgt. [Bilder wurden von J. Neumann und M. Hennig zur Verfügung gestellt]

Auf dem Substrat sind zuvor Interdigital-Transducer (IDT) Strukturen aufgebracht worden (Fingerabstand $26,6\mu\text{m}$). Betreibt man diese mit einer Wechselspannung (bei 153MHz) so erzeugt das entstehende elektrische Feld eine stehende Oberflächenwelle (SAW) auf dem Substrat. Diese überträgt sich vermutlich auf den aufgetragenen Lipid-Bilayer. Letzterer wird dadurch erzeugt, dass eine Vesikel-Lösung

(*Small Unilamellar Vesicles* (SUVs) , Vesikelgrößen $< 0,1\mu\text{m}$) der Lipidmischung auf das LiTaO_3 -Substrat aufgetropft wird, die nachdem sich ein Bilayer durch Vesikelfusion auf dem Substrat gebildet hatte [76], wieder durch Wasser weggespült wird. Betrachtet man dieses System unter dem Einfluss der stehenden Oberflächenwelle in einem Fluoreszenzmikroskop, das die Beobachtung der Texas-Red markierten Lipide ermöglicht, erkennt man ein Umsortieren der Lipide nach einer e^{\sin^2} -Funktion. Der Verlauf ist in dem Intensitätsprofil eines Mikroskopbildes in Abbildung 3.13b) angedeutet. Erstaunlich ist, dass eine sinusförmige Oberflächenwelle ein e^{\sin^2} -förmiges Muster erzeugt.

Um den Intensitätsverlauf zu reproduzieren, kann das beschriebene Simulationsmodell hervorragend eingesetzt werden. Sowohl Lipidmischungen, als auch die durch die Oberflächenwelle vermutlich erzeugte Bewegung der Lipide kann direkt umgesetzt werden. Lässt sich der selbe e^{\sin^2} -Verlauf erzeugen, können Rückschlüsse auf die Art der Kopplung der Membran an die Oberflächenwellen des Substrates gemacht werden. Als konkrete Anwendung, soll in den folgenden Abschnitten deshalb die Realisierung dieses Experiments als Simulation kurz beschrieben und diskutiert werden.

3.7.2. Simulations-Zyklus und Parameterbestimmung einer Lipidmischung DMPC/DSPC

DMPC (M) DSPC (S)	DMPC-DSPC-Wechselwirkungen geordneter (g), ungeordnet (f) Zustand
$T_m^M = 297,1\text{K}$ $T_m^S = 327,9\text{K}$ $\Delta H_M = 26330 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$ $\Delta H_S = 50740 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$	$\omega_{gf}^{MM} = 1353 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$ $\omega_{gf}^{SS} = 1474 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$ $\omega_{gg}^{MS} = 607 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$ $\omega_{gf}^{MS} = 1548 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$ $\omega_{fg}^{MS} = 1716 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$ $\omega_{ff}^{MS} = 251 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$

Tabelle 3.1.: DMPC/DSPC-Wechselwirkungs- und Enthalpieparameter wie sie in [57] aufgeführt sind und für die folgende Simulation verwendet werden.

Zur Umsetzung der im vorigen Abschnitt 3.7.1 beschriebenen Bilayer-Membran einer DOPC/DHPE(Texas-Red)-Mischung wird als Ersatzmodell ein Bilayer einer vergleichbaren Lipidmischung verwendet, deren Wechselwirkungs- und Enthalpieparameter bereits aus Literatur bekannt sind. Das Benutzen eines Ersatzmodells stellt keine Einschränkung dar, da bereits experimentell gezeigt wurde, dass das e^{\sin^2} -Intensitätsmuster für verschiedenste Lipidmischungen auftritt (beispielsweise für eine SOPC/DHPE(Texas-Red)-Mischung) [22]. Für eine Mischung aus *1,2-dimyristoyl*-

	ungeordneter Zustand (f)	
DMPC (M)	$\kappa_f^M = 6,9 \frac{m}{N}$ [77]	$A_f^M = 69,4 \text{Å}^2 \Rightarrow x_{0f}^M = 5,17 \text{Å}$ [77]
DSPC (S)	$\kappa_f^S = 4,4 \frac{m}{N}$ [78]	$A_f^S = 66,0 \text{Å}^2 \Rightarrow x_{0f}^S = 5,04 \text{Å}$ [79]
	geordneter Zustand (g)	
DMPC (M)	$\kappa_g^M = 2,0 \frac{m}{N}$ [80]	$A_g^M = 47,2 \text{Å}^2 \Rightarrow x_{0g}^M = 4,26 \text{Å}$ [80]
DSPC (S)	$\kappa_g^S = 3,3 \frac{m}{N}$ [81]	$A_g^S = 51,1 \text{Å}^2 \Rightarrow x_{0g}^S = 4,43 \text{Å}$ [81]

Tabelle 3.2.: Lipidflächen und elastische Parameter zusammen mit ihren Quellen wie sie für die folgenden Simulationen verwendet werden.

sn-glycero-3-phosphocholin (DMPC, Molmasse $677,9 \frac{g}{mol}$) und *1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholin* (DSPC, Molmasse $790,2 \frac{g}{mol}$) ist in [21] oder [57] ein Parametersatz für Lipid-Bilayer gegeben. Dieser vergrößert sich im Vergleich zu einem reinen DPPC-System, da nicht nur Wechselwirkungen zwischen dem gleichen Lipid, sondern auch zwischen zwei unterschiedlichen Lipiden auftreten können. Tabelle 3.1 zeigt die aus [57] adaptierten Parameter.

Zusätzlich müssen für die vorliegende Simulation noch die elastischen Eigenschaften der Lipide bekannt sein. Da in dem beschriebenen Experiment Bilayer-Membranen untersucht werden, müssen auch die entsprechenden Bilayer-Parameter von Lipidfläche A und Kompressibilität κ der Lipidzustände verwendet werden. Diese können aus Literatur übernommen oder adaptiert werden. Tabelle 3.2 zeigt die verwendeten Größen, zusammen mit ihren Quellen.

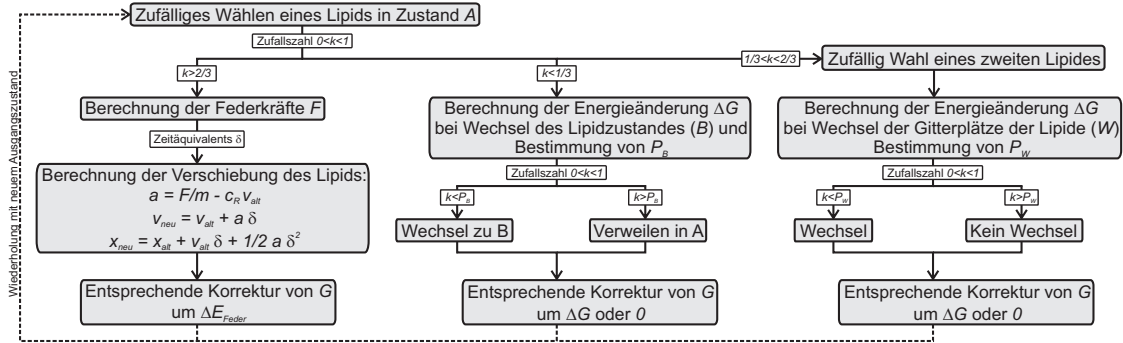


Abbildung 3.14.: Erweiterter Simulations-Zyklus, inklusive eines Diffusionsschrittes, der parallel zu den bereits beschriebenen Schritten zum Zustandswechsel oder zur Lipidbewegung stattfinden kann. Der zusätzliche Schritt gibt die Diffusion in Zwei-Komponenten-Lipid-Systemen wieder. In ihm können zwei Lipide ihren Gitterplatz wechseln. Um dies zu entscheiden, wird ein zweites Lipid zufällig ausgewählt. Wie bei einem Zustandswechsel, wird ΔG für den Gitterplatzwechsel der beiden gewählten Lipide berechnet und damit die Wahrscheinlichkeit bestimmt mit der tatsächlich ein Platzwechsel stattfinden kann.

Die Gibbs freie Energie ΔG ändert sich entsprechend ab, da nun zwei Lipidsorten auftreten können. Es ergibt sich, je nachdem ob ein DMPC-, oder ein DSPC-Lipid betrachtet wird folgende Form für ΔG .

$$\begin{aligned} \Delta G = & \Delta H_{M/S} \left(1 - \frac{T}{T_m^{M/S}} \right) + \Delta n_{gf}^{MM} \omega_{gf}^{MM} + \Delta n_{gf}^{SS} \omega_{gf}^{SS} + \Delta n_{gf}^{MS} \omega_{gf}^{MS} \\ & + \Delta n_{fg}^{MS} \omega_{fg}^{MS} + \Delta n_{gg}^{MS} \omega_{gg}^{MS} + \Delta n_{ff}^{MS} \omega_{ff}^{MS} + \frac{\Delta E_{Feder}}{2} \end{aligned} \quad (3.14)$$

Abschließend muss noch der Simulations-Zyklus erweitert werden. Lipide unterschiedlichen Typs können nun noch ihren Gitterplatz tauschen, was Diffusion in das System einführt. In diesem zusätzlichen Schritt wird zum ersten zufällig gewählten Lipid, ein zweites Lipid zufällig bestimmt, das direkter Nachbar sein oder, unphysikalischer, eine beliebige Position auf dem Lipidgitter besitzen kann [21]. Nun wird die Änderung ΔG (wie Gleichung 3.14 ohne den Term $\Delta H_{M/S} \left(1 - \frac{T}{T_m^{M/S}} \right)$) berechnet, falls die Lipide ihren Gitterplatz tauschen würden und damit die Wahrscheinlichkeit eines tatsächlichen Wechsels bestimmt. Ob letzterer tatsächlich durchgeführt wird, bestimmt eine weitere Zufallszahl. Abbildung 3.14 zeigt den entsprechend erweiterten Simulations-Zyklus. Parallel zu den in Abschnitt 3.3.2 definierten Schritten für Zustandswechsel und Lipidbewegung wird ein Diffusionsschritt eingeführt. Am Ende aller Schritte wird, falls nötig, die gesamte Enthalpie G wieder um ΔG oder ΔE_{Feder} korrigiert.

3.7.3. Durchführung und Ergebnis der Simulation

Um das in Abschnitt 3.7.1 beschriebene Experiment umzusetzen wird von einem 200×200 Lipidgitter ohne zirkulare Randbedingungen ausgegangen, auf dem zu Beginn 20% DSPC und 80% DMPC Lipide verteilt sind. Darüber hinaus sollen für die simulierten Bilayer alle Federn sowohl bei Kompression als auch bei Expansion Kräfte auf die jeweiligen Lipide ausüben (im Gegensatz zu den Annahmen für Monolayer aus Abschnitt 3.3). Es wird angenommen, dass die Lipide an die hochfrequente Oberflächenwelle auf dem Substrat koppeln. Der komplette Bilayer wird aber nicht der Oberflächenwelle entsprechend verzerrt, sondern die Lipide nur zu Bewegungen angeregt. Diese werden in der Simulation dadurch umgesetzt, dass das Geschwindigkeitsfeld der Lipidgitterplätze entsprechend der Oberflächenwelle, sinusförmig, variiert wird. Abbildung 3.15a) zeigt die Ergebnisse der Simulation eines ungeordneten DMPC/DSPC-Bilayers, wobei sowohl die Periodizität der Geschwindigkeitsvariation als auch das daraus resultierende Umverteilen der DSPC Lipide angegeben ist.

Tatsächlich ergibt sich durch die sinusförmige Oberflächenwelle ein e^{\sin^2} -förmiges Umverteilen der DSPC-Lipide, wie der Fit in 3.15a) zeigt. Die Ursache für die Umverteilung ist vermutlich die durchschnittlich höhere Verzerrung der Federn der mehr bewegten DMPC-Lipide (an den Bäuchen der Sinuskurve in Abbildung 3.15), die so mit bevorzugt ihren geordneten Zustand einnehmen würden. Da die DMPC-Lipide im geordneten Zustand stärkere Wechselwirkungen mit dem ungeordneten Zustand der DSPC-Lipide besitzen (vgl. Tabelle 3.2), würden diese folglich versuchen ihre Wechselwirkungen durch Diffusion und Umsortierung zu minimieren. Zusätzlich ist in Abbildung 3.15b) noch angegeben, wie sich die Amplitude der e^{\sin^2} -Oszillationen nach Beginn der Simulation entwickelt. Wie für einen Diffusionsprozess erwartet, zeigt sich ein exponentielles Verhalten, das auch in den Experimenten beobachtet werden konnte.

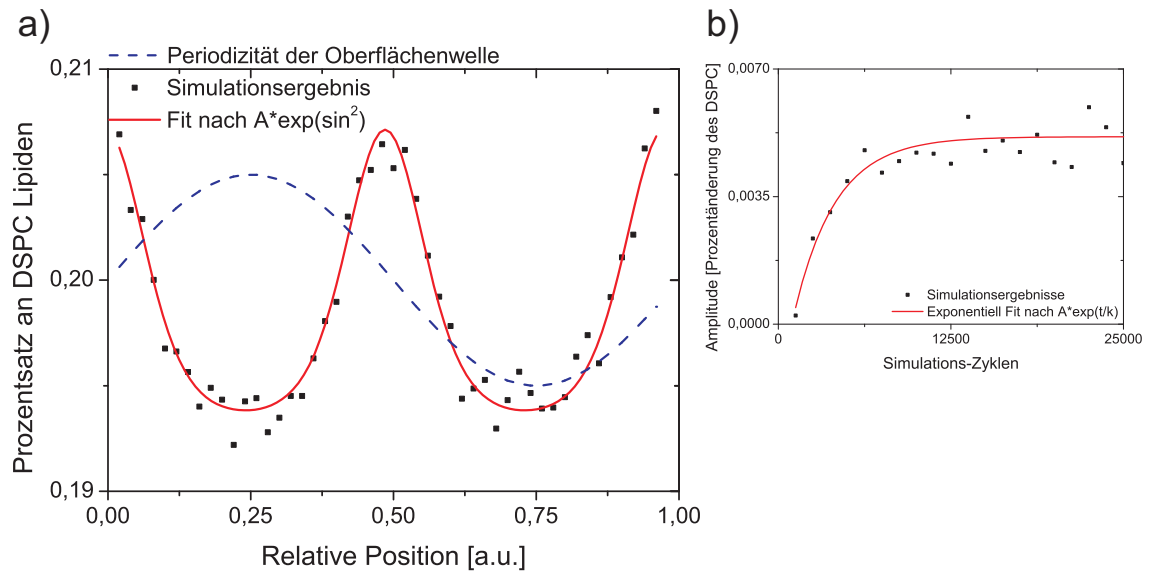


Abbildung 3.15.: a) Ergebnis der Simulation der Anregung eines DSPC/DMPC-Bilayers (20%/80%) (schwarze Messpunkte) durch eine Oberflächenwelle (Periodizität blau gestrichelt). Zusätzlich ist ein e^{\sin^2} -Fit (rot) gegeben, der klar zeigt, dass tatsächlich das erwartete e^{\sin^2} -Muster entsteht. b) Resultierenden Amplituden der Oszillationen wie in a) im Verlauf der Simulations-Zyklen (schwarze Messpunkte). Der Fit (rot) zeigt das exponentielle Einstellen des e^{\sin^2} -Musters.

Mit Hilfe dieser Simulation kann gezeigt werden, dass eine sinusförmige Variation der Lipidgeschwindigkeiten im Bilayer ein e^{\sin^2} -Muster erzeugt. Ein Rütteln an den Lipiden durch eine direkte Kopplung der Oberflächenwelle an den Bilayer kann also das beobachtete experimentelle Verhalten bereits erklären.

3.8. Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde zunächst ein bereits vielfach benutztes Modell zur Monte Carlo Simulation des Phasenübergangs bei Lipidmembranen beschrieben [63, 56, 21, 62, 57]. Es ist ähnlich einem Zwei-Zustand-Ising-Modell, bei dem Lipide auf einem starren hexagonalen Gitter verteilt werden und entweder in einem niederenergetischen, geordneten Zustand, oder einem höherenergetischen, ungeordneten Zustand sein können. Während eines Simulations-Zyklus einer entsprechenden Monte Carlo Simulation wird als erstes ein Lipid auf dem Gitter zufällig ausgewählt. Im Anschluss wird die Änderung der Gibbs freien Energie der Zustandsänderung dieses Lipids dazu benutzt eine auf dem Boltzmannfaktor beruhende Wahrscheinlichkeit zu bestimmen, nach der ein Zustandswechsel des Lipides stattfinden kann, oder nicht. In Folge dieser Zyklen werden eine Reihe von Zuständen des Systems erzeugt, deren Gibbs freie Energie oder freie Enthalpie bekannt ist und dazu genutzt werden können um beispielsweise aus deren Fluktuationen thermodynamische Größen, wie die Wärmekapazität, zu berechnen. Die Erzeugung der Zustände gewichtet nach Wahrscheinlichkeiten ist unter dem Begriff des Metropolis-Algorithmus bekannt und wurde in der vorliegenden Arbeit nach dem Glauber-Algorithmus realisiert.

Bei obigem Typ von Monte Carlo Simulationen kann, wegen des starren Gitters, die Bewegung der Lipide nicht berücksichtigt werden. Um dennoch die Dynamik beweglicher Lipide zu integrieren, wurde ein neues System aufgebaut, das auf der Erweiterung des bekannten Modells basiert. Dies geschah durch ein Ersetzen des starren hexagonalen Gitters durch frei bewegliche Lipide, die in einem hexagonalen Federnetzwerk (harmonische Potentiale) verbunden wurden, das sowohl die Bewegung der Lipidplätze, als auch die Realisierung der elastischen Eigenschaften einer Lipidmembran ermöglichte. Die Gibbs freie Energie wurde um die Federenergien ergänzt und der zuvor definierte Simulations-Zyklus um einen Schritt, in dem die Lipide den newton'schen Federkräften entsprechend bewegt wurden, ergänzt. Dazu wurde ein Zeitäquivalent und eine Reibungskonstante eingeführt, die die Schrittweiten der Lipide pro Zyklus definieren. Um das erstellte Modell zu überprüfen, sollten DPPC-Monolayer-Isothermen berechnet werden. Alle dazu nötigen Größen, wie Lipidflächen oder Lipidkompressibilitäten wurden aus Messungen oder Literatur ermittelt. Schließlich wurde noch das Zeitäquivalent und die Reibungskonstante mit Hilfe eines Vergleichs zu einer gemessenen Isotherme sinnvoll gewählt.

Der Rechenaufwand der durchgeführten Simulationen konnte von einem herkömmlichen Heimrechner bewältigt werden. Die simulierten Isothermen zeigten gute Übereinstimmung mit dem Experiment. Sowohl die Temperaturabhängigkeit der Lage des Phasenübergangsplateaus der Isothermen, als auch die Domänenbildung kann-

ten detailliert reproduziert werden. Darüber hinaus war es möglich die experimentell nicht zugängliche Wärmekapazität eines Lipid-Monolayers zu bestimmen und die Proportionalität zur Monolayer-Kompressibilität nach Gleichung 2.11 zu überprüfen und zu diskutieren. Gründe für Unterschiede zwischen simulierten und gemessenen Isothermen liegen in der begrenzten Größe der Modellgitter, aber auch in den simplifizierenden Annahmen zu den Lipidzuständen und deren Wechselwirkung über Federn.

Abschließend wurde ein dynamisches experimentelles System (von J. Neumann und M. Hennig) simuliert. Es bestand aus einem Bilayer, der aus einer Mischung aus fluoreszenzmarkierten Lipiden und unmarkierten Lipiden bestand. Der Bilayer war auf einem Substrat aufgebracht, auf dem sich eine stehende Oberflächenwelle erzeugen ließ, die die Lipide des Bilayers in Bewegung versetzte. Dadurch konnte mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops ein charakteristisches e^{\sin^2} -Muster beobachtet werden, welches das Umsortieren markierter Lipide entsprechend der Oberflächenwelle andeutete. In dem dynamischen Modell für dieses Experiment, wurde eine DMPC/DSPC-Mischung an Bilayer-Lipiden implementiert, die als Ersatzmodell für das experimentellen System betrachtet werden konnte. Alle nötigen Parameter dazu wurden aus Literaturquellen übernommen. In der eigentlichen Simulation wurden die Lipide der Oberflächenwelle entsprechend in Bewegung versetzt und es zeigte sich ein charakteristisches Umsortieren der DSPC-Lipide nach einem e^{\sin^2} -Muster. Damit konnte darauf geschlossen werden, dass die Bilayer-Lipide im Experiment auf einfache Art und Weise direkt an das Substrat koppelten.

Kapitel 4: Elektrische Anregung von Lipid-Monolayern

Ein Lipid-Monolayer impliziert durch seine messbare Kompressibilität, dass er eigene elastische Eigenschaften besitzt. Unter diesem Aspekt kann er als auf dem Wasser schwimmende, elastische Platte betrachtet werden. Diese ist nahezu unendlich dünn und zweidimensional, muss aber auf Grund ihrer Kompressibilität, die, im übertragenen Sinne, selben Fähigkeiten besitzen wie ihr dreidimensionales Pendant. Darunter im speziellen die Fähigkeit zur Propagation von akustischen longitudinalen Wellen. Da diese auf Lipid-Monolayern bis jetzt nur sehr wenig Beachtung erhielten, sollen sie im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit stehen. Dazu wird in diesem Kapitel versucht, auf elektrischem Wege, akustische Wellenphänomene auf Lipid-Monolayern zu erzeugen und zu beschreiben.

4.1. Theorie zur Akustik in Lipid-Monolayern

Die folgende Betrachtung lehnt sich an den dreidimensionalen Fall in [82] an. Es soll eine unendlich dünne, zweidimensionale, elastische Platte in Form eines Lipid-Monolayers betrachtet werden. Dieser habe die Oberflächendichte $\rho(x, y, t)$ und den Oberflächendruck $\pi(x, y, t)$, wobei die Geschwindigkeit der einzelnen Teilchen durch $\vec{v}(x, y, t) = (v_x(x, y, t), v_y(x, y, t))$ gegeben sei. Die Kontinuitätsgleichung hat in diesem System folgende Form.

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \text{div}(\rho \vec{v}) = 0 \quad (4.1)$$

Als kontinuierliche Form der Newton'schen Gleichung ist die Euler'sche Gleichung gegeben durch:

$$\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + (\vec{v} \nabla) \vec{v} = -\frac{1}{\rho} \nabla \pi \quad (4.2)$$

Für die Beschreibung von akustischen Wellen auf einem Lipid-Monolayer soll angenommen werden, dass ihre Schwingungen klein und somit die Änderungen in π , ρ und \vec{v} klein sind. Außerdem genügt es die Propagation der longitudinalen Welle in eine Richtung entlang der x -Achse zu betrachten, so dass im Folgende nur noch Funktionen der Form $\pi(x, t)$, $\rho(x, t)$ und $\vec{v} = (v_x(x, t), 0)$ betrachtet werden müssen. Sei weiterhin $\pi = \pi_0 + \pi'$ und $\rho = \rho_0 + \rho'$, wobei π_0 bzw. ρ_0 zeit- und ortsunabhängige

Ausgangswerte und π' bzw. ρ' die zeitlichen und örtlichen Änderungen auf Grund der Welle sind. Vernachlässigt man Größen zweiter Ordnung ($\vec{v}\nabla\vec{v}$, $\vec{v}\rho'$, etc.) wird Gleichung 4.1 zu:

$$\frac{\partial \rho'}{\partial t} = -\rho_0 \frac{\partial v_x}{\partial x} \quad (4.3)$$

Für kleine Änderungen ρ' gilt in sehr guter Näherung, dass $\rho' = \left(\frac{\partial \pi_0}{\partial \rho_0}\right)_S^{-1} \pi'$, für einen adiabatischen Vorgang wie einer Schallwelle (Index S). Es wird weiterhin angenommen, dass $\left(\frac{\partial \pi_0}{\partial \rho_0}\right)_S^{-1}$ weder frequenz- noch amplitudenabhängig ist. Ist A_0 die Fläche pro Lipid und m die Lipidmasse, dann ist $\rho_0 = \frac{m}{A_0}$ und $\left(\frac{\partial \pi_0}{\partial \rho_0}\right)_S^{-1}$ lässt sich in Abhängigkeit von A darstellen.

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial \pi_0}{\partial \rho_0}\right)_S^{-1} &= m \left(\frac{\partial \frac{1}{A_0}}{\partial \pi_0}\right)_S = -\frac{m}{A_0^2} \left(\frac{\partial A_0}{\partial \pi_0}\right)_S \\ \Leftrightarrow \rho' &= -\frac{m}{A_0^2} \left(\frac{\partial A_0}{\partial \pi_0}\right)_S \pi' = -\rho_0 \kappa_S \pi' \end{aligned} \quad (4.4)$$

Wobei die Definition von $\kappa_S = -\frac{1}{A_0} \left(\frac{\partial A_0}{\partial \pi_0}\right)_S$ verwendet wurde. Mit Gleichung 4.4 kann Gleichung 4.3 umgeformt und im Anschluss zusätzlich nach x abgeleitet werden.

$$\begin{aligned} \frac{\partial \pi'}{\partial t} &= -\frac{1}{\kappa_S} \frac{\partial v_x}{\partial x} \\ \xrightarrow{\frac{\partial}{\partial x}} \frac{\partial \pi'}{\partial t \partial x} &= -\frac{1}{\kappa_S} \frac{\partial^2 v_x}{\partial x^2} \end{aligned} \quad (4.5)$$

Unter Berücksichtigung der selben Näherungen und Definitionen für akustische Wellen kleiner Amplituden wie oben, kann auch die Euler'sche Gleichung 4.2 vereinfacht werden. Mit zusätzlichem Ableiten nach t erhält man:

$$\begin{aligned} \rho_0 \frac{\partial v_x}{\partial t} &= -\frac{\partial \pi'}{\partial x} \\ \xrightarrow{\frac{\partial}{\partial t}} \frac{\partial \pi'}{\partial t \partial x} &= -\rho_0 \frac{\partial^2 v_x}{\partial t^2} \end{aligned} \quad (4.6)$$

Durch Gleichsetzen von Gleichung 4.5 und Gleichung 4.6 ergibt sich die so genannte Wellengleichung des Lipid-Monolayers.

$$\frac{\partial^2 v_x}{\partial t^2} - c_0^2 \frac{\partial^2 v_x}{\partial x^2} = 0, \text{ mit } c_0 = \sqrt{\frac{1}{\rho_0 \kappa_S}} \quad (4.7)$$

Es sei nochmals erwähnt, dass κ_S zur Herleitung als unabhängig von Frequenz und Amplitude der Welle angenommen wurde. Die Lösungen von Gleichung 4.7 sind Wellen der Form $v_x = A e^{i(\omega t - kx)}$ mit der Frequenz ω und dem Wellenvektor k . Durch Einsetzen kann die Dispersionsrelation für k und damit die Ausbreitungsgeschwindigkeit c und die Dämpfung β der Welle bestimmt werden. Es ergibt sich

$c = c_0 = \frac{\omega}{\Re(k)} = \sqrt{\frac{1}{\rho_0 \kappa_S}}$ und $\beta = -\Im(k) = 0$, was einer akustischen, ungedämpften Welle entspricht. Dieses Ergebnis ist, wie erwartet, das zweidimensionale Analogon zum dreidimensionalen Fall einer Schallwelle.

Mit dem Ansatz $v_x = Ae^{i(\omega t - kx)}$ hat nach Gleichung 4.3 die Dichteänderung in der Welle die Form $\rho' = Be^{i(\omega t - kx)}$. Einsetzen in Gleichung 4.3 liefert den Zusammenhang der Amplituden A und B der Geschwindigkeit und der Dichteänderung.

$$iB\omega = i\rho_0 A k \Leftrightarrow A = \frac{\omega}{k\rho_0} B \quad (4.8)$$

Abgesehen von den mechanischen Änderungen, ändert sich für einen adiabatischen Vorgang auf Grund der periodischen Dichte- und Druckänderungen ρ' und π' auch die Temperatur periodisch. Bezeichnet man diese Änderung mit T' , so gilt für kleine Schwankungen $T' = \left(\frac{\partial T}{\partial \pi}\right)_S \pi'$. Diese lässt sich unter Benutzung der Maxwellrelation $\left(\frac{\partial T}{\partial \pi}\right)_S = \left(\frac{\partial A}{\partial S}\right)_\pi$ und Gleichungen 2.5 und 2.7 folgendermaßen umformen.

$$\begin{aligned} T' &= \left(\frac{\partial A}{\partial S}\right)_\pi \pi' = \left(\frac{\left(\frac{\partial A}{\partial T}\right)_\pi}{\left(\frac{\partial S}{\partial T}\right)_\pi}\right) \pi' = \\ &= \frac{A\alpha_\pi T}{c_\pi} \pi' = -\frac{A\alpha_\pi T}{c_\pi \rho_0 \kappa_S} \rho' \end{aligned} \quad (4.9)$$

Damit sind die mechanischen Schwingungen einer akustischen, zweidimensionalen Welle direkt mit einer periodischen Temperaturänderung im Medium der Welle verknüpft.

Die grösste Näherung, die für obige Herleitung von Beginn an verwendet wurde, ist die Vernachlässigung der Kopplung des Lipid-Monolayers an das Wasser auf dem er schwimmt. Für eine erste Betrachtung ist dies legitim und es wird sich zeigen, dass sich die in diesem Kapitel experimentell untersuchten Wellenphänomene auf Monolayern entsprechend Gleichung 4.7 verhalten. Dennoch zeigt Kapitel 5, dass die vernachlässigte Kopplung an das Wasser direkten Einfluss auf die Wellenausbreitung auf Lipid-Monolayern nimmt. Dort wird deshalb eine Erweiterung obiger Theorie aufgebaut, die dies berücksichtigt.

4.2. Versuchsaufbau zur elektrischen Anregung

4.2.1. Anregungsprinzip und Anregungschips

In diesem Kapitel wird die Idee verfolgt die Lipid-Monolayer durch elektrische Felder anzuregen. An letztere muss jedes Dipolmoment oder jede Ladung eines Lipides

koppeln, so dass es möglich ist, Lipide und deren Strukturen durch äußere Felder zu beeinflussen [69]. Zur Erzeugung der elektrischen Felder werden in der vorliegenden Arbeit sogenannte interdigitale Transducer-Strukturen (IDTs) verwendet, die unter anderem zur Erzeugung von Oberflächenwellen (SAWs) auf piezoelektrischen Substraten eingesetzt werden. Ein Beispiel eines in dieser Arbeit eingesetzten IDTs ist in Abbildung 4.1a) zu sehen. Es handelt sich im wesentlichen um zwei ineinander greifende Kammstrukturen (Fingerabstand ca. $10\mu\text{m}$). Diese bestehen aus einer Titan-Gold-Titan-Schichtfolge ($\approx 10\text{nm} - 50\text{nm} - 10\text{nm}$), in der Titan als Haftvermittler und Gold als die eigentliche Elektrode dient. Ein solcher IDT wird auf das gewünschte Substrat aufgebracht und mit einer SiO_2 -Schicht ($\approx 100\text{nm}$), zum Schutz und zur Isolation, überzogen. Diese wird gegebenenfalls mit Hilfe von *Trichlorooctadecylsilan* hydrophobisiert. Eine Zusammenfassung des Herstellungsprozesses ist in Anhang B.5 gegeben.

Zur Kontaktierung der IDT-Elektrodenkämme werden die Anregungschips an einem kleinen Aluminiumblock geklebt, durch den das Zuleitungs-Koaxial-Kabel verläuft. Dieses wird durch Leitsilber mit den Elektroden verbunden. Die offenliegenden Kontakte und Teile des Kabels werden anschließend mit isolierendem Epoxid-Harz versiegelt. Damit ist garantiert, dass es zu keinem direkten, leitenden Kontakt zwischen Anregungschipelektroden und dem Lipid-Monolayer kommt.

Es werden vier verschiedene Substrate für die Chips verwendet. Außgehend von der anfänglichen Idee den Monolayer durch SAWs direkt anzuregen, werden zur elektrischen Anregung hauptsächlich piezoelektrische LiTaO_3 - und LiNbO_3 -Substrate verwendet. Daneben werden SiO_2 - oder amorphes Quarzglas-Substrate verwendet, mit denen die Anregung auf gleiche Art und Weise gelingt, wie mit Anregungschips auf LiTaO_3 - und LiNbO_3 -Substraten. Da die SiO_2 - oder Glassubstrate keine, bzw. nur schwach ausgeprägte piezoelektrischen Eigenschaften besitzen, können auf ihnen ohnehin keine SAWs entstehen, so dass sich im Falle der piezoelektrischen Substrate bereits andeutet, dass die SAWs auch bei ihnen als Anregungsursache ausgeschlossen werden können.

Um die Funktionsfähigkeit der Anregungschips auf LiTaO_3 - oder LiNbO_3 -Substraten zu testen, werden diese an einen Netzwerkanalysator angeschlossen (*Rhode & Schwarz, ZVC, München*). Letzterer erlaubt den Betrieb (Anlegen einer hochfrequenten, sinusförmigen Wechselspannung) und die Messung der frequenzabhängigen, reflektierten Leistung vom Chip. Für diese ist bekannt, dass sie minimale Leistungsreflexion bei der Frequenz produzieren, bei der SAWs auf dem Substrat entstehen [83, 75].

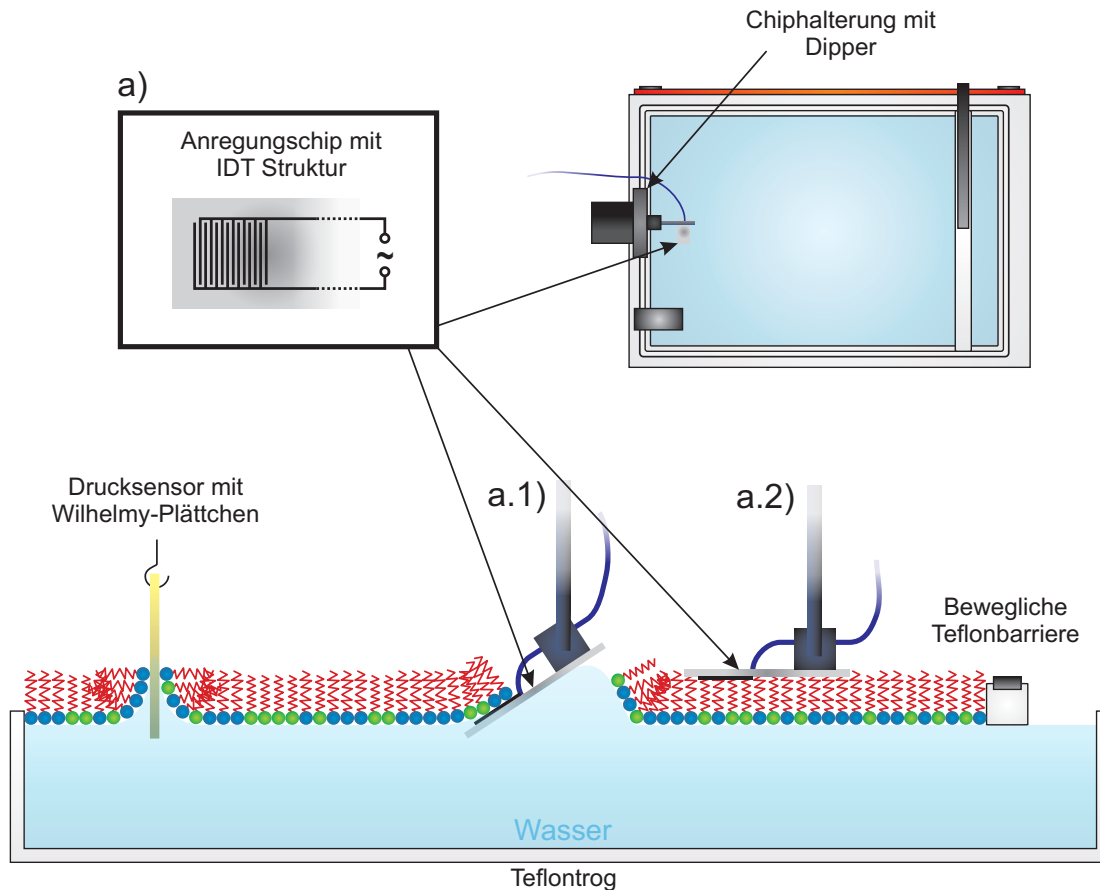


Abbildung 4.1.: Versuchsaufbau für die elektrische Anregung von Lipid-Monolayern. IDT-Strukturen werden auf oder in den Monolayer gebracht und mit einer hochfrequenten (MHz), elektrischen Spannung betrieben. Das entstehende elektrische Feld koppelt an den Monolayer und regt diesen an. Die Veränderungen durch die Anregung werden mit Hilfe eines Wilhelmy-Oberflächendrucksensors aufgezeichnet. In a) ist die verwendete IDT-Struktur im Detail zu sehen, deren Ankopplung an den Monolayer auf zwei verschiedenen Wegen a.1) und a.2) realisiert wird. Die Anregungschips selbst sind mit Hilfe einer Halterung an den Dipper-Mechanismus der Filmwaage montiert, der das kontrollierte Heben und Senken der Chips ermöglicht.

Bei der verwendeten IDT-Geometrie ist zu erwarten, dass dies um $165MHz$ geschieht. Zeigt die reflektierte Leistung bei ungefähr dieser Frequenz ein deutliches Minimum, kann der Chip als funktionsfähig betrachtet werden. Der Grund für dieses frequenzspezifische Minimum, ist in der IDT-Geometrie zu suchen. Diese besteht aus sich in $\approx 10\mu m$ -Abstand wiederholenden Elektrodenpaaren. Von jeder Elektrode wird demnach beim Betrieb der Chips mit einer bestimmten Frequenz auf dem piezoelektrischen Substrat eine SAW ausgesandt. Nach dem Huygenschen Prinzip überlagern sich diese und nur bei den Frequenzen, die der durch den Fingerabstand vorgegebenen Wellenlänge ($\approx 20\mu m$) entsprechen, kommt es zu keiner Auslöschung sondern zur konstruktiven Interferenz der Teilwellen. Ist c die Ausbreitungsgeschwindigkeit

auf dem Substrat muss für die Frequenz f und Wellenlänge λ , $c = f\lambda$ gelten. Da die Ausbreitungsgeschwindigkeit der SAWs für die verwendeten piezoelektrischen Substrate ($c(\text{LiTaO}_3) \approx 4150 \frac{\text{m}}{\text{s}}$, $c(\text{LiNbO}_3) \approx 3980 \frac{\text{m}}{\text{s}}$) bekannt ist [75], wird letztere Relation zur genaueren Bestimmung des Fingerabstandes und somit der Wellenlänge λ der Anregungschips benutzt.

Für die Monolayer-Anregung werden stets Frequenzen zwischen 0MHz - 27MHz benutzt, so dass SAWs als Anregungsursache definitiv ausgeschlossen werden können.

4.2.2. Filmwaagenaufbau und Versuchsdurchführung

Über den Aluminiumblock und ein einfaches Gestänge können die in Abschnitt 4.2.1 beschriebenen Anregungschips an den Dipper-Mechanismus der Filmwaage montiert werden (siehe Abbildung 4.1). Er ermöglicht ein kontrolliertes Absenken und Anheben der Anregungschips, so dass eine kontrollierte Kontaktierung mit dem Lipid-Monolayer möglich ist. Abbildungen 4.1a.1) und 4.1a.2) zeigen die zwei Möglichkeiten zur Kontaktierung, die genutzt werden. Im ersten Fall wird ein nicht hydrophobisierter Anregungschip zunächst in die Subphase gebracht, um nach dem Aufbringen des Monolayers wieder so weit angehoben zu werden, dass IDT und Monolayer in bestmöglichen Kontakt geraten, wie es in Abbildung 4.1a.1) skizziert ist. Im zweiten Fall wird ein hydrophobisierter Anregungschip direkt von oben auf den bereits aufgebrauchten Monolayer herangefahren, bis sich dieser an den Chip anheftet (erkennbar am sich bildenden Wassermeniskus zum Chipsubstrat hin), wie es in Abbildung 4.1a.2) zu sehen ist. Beide Möglichkeiten zur Konatkierung liefern bezüglich des Lipid-Monolayers die selben Ergebnisse und zeigen, dass der Monolayer sowohl von der Wasser-, als auch von der Luftgrenzschicht aus anregbar ist.

Die Anregungschips selbst werden zum Versuch über einen Hochfrequenzverstärker (*Mini-Circuits, ZHL 2010+*, *New York*) an einen Hochfrequenzgenerator (*Rhode & Schwarz, SML 01, München*) angeschlossen. Letzterer erlaubt das Durchführen von Frequenz-Sweeps, bei denen über einen vorbestimmten Zeitraum Frequenzen zwischen 0MHz bis 27MHz linear abgefahren werden können. Das Verbindungskabel zwischen Chip und Verstärker wird mit größtmöglichem Abstand zur restlichen Elektronik gelegt um mögliche Beeinflussung durch Radiosignale möglichst auszuschließen.

Vor jedem Anregungsexperiment wird nach dem Aufbringen des Monolayers dessen Isotherme gemessen um die Monolayerqualität zu überprüfen. Zeigt diese keine Anomalien, wird nach dem Positionieren und Kontaktieren des Anregungschips zunächst ein bestimmter Oberflächendruck durch Kompression des Monolayers ein-

gestellt. Bei konstanter Monolayer-Fläche wird nun der Oberflächendruck mit Hilfe der Software der Filmwaage (*NIMA, Coventry, England*, Zeitauflösung ca. 0,1s) zeitaufgelöst ausgelesen und gleichzeitig ein Frequenz-Sweep am Hochfrequenzgenerator gestartet. Jeder aufgezeichnete Zeitpunkt kann so mit einer Frequenz verknüpft werden und ein Oberflächendruck-Frequenz-Spektrum erzeugt werden.

4.3. Experimente zur elektrischen Anregung

Für die folgenden Versuche wird ein $LiTaO_3$ -Anregungschip in Richtung des Drucksensors positioniert und kontaktiert, wie es in Abbildung 4.1a.1) zu sehen ist. Anschließend werden für verschiedene Lipid-Monolayer oder die reine Wasseroberfläche Oberflächendruck-Frequenz-Spektren aufgezeichnet (vgl. Abschnitt 4.2).

4.3.1. Erwartungen für den Oberflächendruck der Monolayer auf Grund akustischer Wellenphänomene

Zunächst muss geklärt werden, was eine Messung wie sie in Abschnitt 4.2 beschrieben wird, erwarten lässt. Wieso sollte sich der globale, durchschnittliche Oberflächendruck des Monolayers, der durch den Drucksensor aufgezeichnet wird, auf Grund eines Wellenphänomens ändern?

Nimmt man an, dass es sich bei dem angeregten Wellenphänomen um eine lokale akustische Welle der (Kreis-)Frequenz $\omega = \frac{2\pi}{T}$ auf dem Monolayer handelt, gilt dort für den lokalen, durchschnittlichen Oberflächendruck $\bar{\pi}$:

$$\bar{\pi} = \frac{1}{T} \int_0^T \pi(A(t)) dt \quad (4.10)$$

Dabei ist T die Dauer einer Periode und $\pi(A(t))$ der Oberflächendruck einer zeitabhängigen Änderung der Lipidfläche $A(t)$ der Welle. Nimmt man eine sich in der Dichte sinusförmig verändernde Welle $\rho(t) = \rho_0 + B \cos(\omega t)$ an, wie sie in Abschnitt 4.1 beschrieben wird, so ist $A(t) = \frac{m}{\rho_0 + B \cos(\omega t)}$, wobei m die Masse des Lipids ist. Beschreibt $A_0 = \frac{m}{\rho_0}$ die Lipidfläche, um die die Welle oszilliert, lässt sich damit die durchschnittliche Oberflächendruckänderung $\overline{\Delta\pi}$ folgendermaßen darstellen.

$$\overline{\Delta\pi} = \frac{1}{T} \int_0^T \pi\left(\frac{m}{\rho_0 + B \cos(\omega t)}\right) dt - \pi\left(\frac{m}{\rho_0}\right) \quad (4.11)$$

Für die durchgeführten Messungen bedeutet das, dass durch Messung der Isothermen die entsprechende Funktion $\pi(A)$ dafür verwendet werden kann, die Druckveränderungen $\overline{\Delta\pi}$ durch ein lokales Wellenphänomen zumindest qualitativ vorherzusagen.

Abbildung 4.2 zeigt die Monolayer-Isothermen und Kompressibilitäten der für die folgenden Versuche verwendeten Lipide und Lipid-Mischungen auf einer reinen Wassersubphase. Es wurde zum einen reines DPPG bei 14°C und eine Mischung aus DPPG und DPPC (10% DPPG in DPPC) bei 20°C verwendet. Das negativ geladene DPPG wird benutzt, um die Kopplung der Lipide an das elektrische Feld zu verbessern, da ein Dipol nur eine Kraft in einem Feldgradienten erfahren würde, der im vorliegenden Fall (IDT) nicht deutlich ausgeprägt ist [75]. Die Isothermen in Abbildung 4.2 zeigen den erwarteten Hauptübergang für die DPPG/DPPC-Mischung und eine Art Knick für pures DPPG. Letzterer entspricht nicht dem Hauptübergang von DPPG, da dieser erst bei viel höheren Temperaturen zu erwarten ist. Er widerspiegelt eventuell den Übergang der flüssig-kondensierten zur festanalogen Phase, wird im folgenden aber schlicht als Kompressibilitätsmaximum bezeichnet und behandelt.

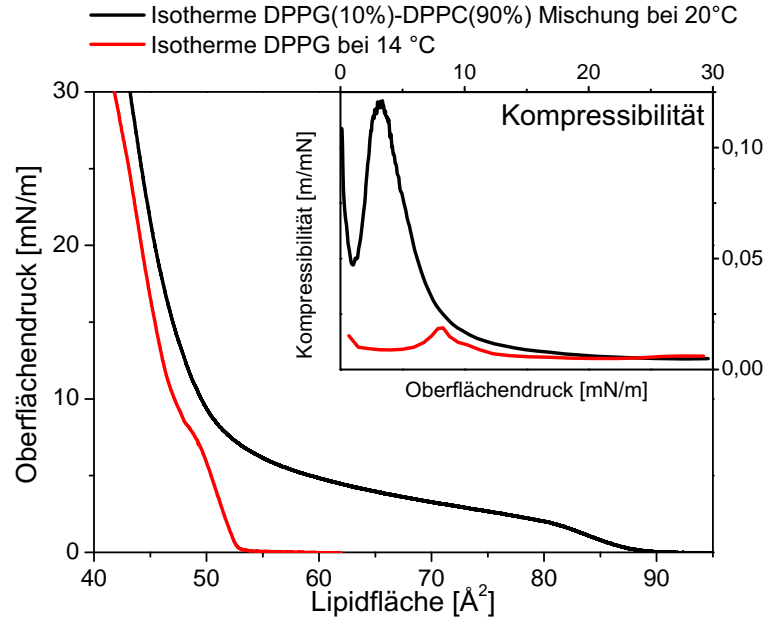


Abbildung 4.2.: Isothermen der für die elektrische Anregung benutzten Lipid-Monolayer. Es wird reines, negativ geladenes DPPG (bei 14°C) und eine Mischung aus DPPG und DPPC (10% DPPG in DPPC bei 20°C) auf einer reinen Wassersubphase verwendet. Der Inset-Graph zeigt die zugehörigen Kompressibilitäten der Lipid-Monolayer.

Eine Isothermen-Kurve in Abbildung 4.2 entspricht der $\pi(A)$ -Funktion aus Gleichung 4.11 und kann zur Berechnung von $\overline{\Delta\pi}$ verwendet werden. Einzig variabler Parameter ist die Amplitude B der angenommenen Welle in $\rho(t) = \rho_0 + B\cos(\omega t)$. Zur Veranschaulichung wird deshalb die $\overline{\Delta\pi}(\pi)$ -Kurve für verschiedene Werte von B numerisch ermittelt. Die Berechnung wird mit Hilfe der Software-Entwicklungsumgebung *SciLab* umgesetzt, die bereits Routinen zur numerischen Integration (In-

tegral in Gleichung 4.11) enthält. Der benutzte, kurze Programmcode ist in Anhang B.6 wiedergegeben. Abbildung 4.3 zeigt für den DPPG-Monolayer die so ermittelten $\overline{\Delta\pi}(\pi)$ -Kurven bei drei verschiedenen Werten von B .

Tatsächlich werden durchschnittliche lokale Oberflächendruckänderungen $\overline{\Delta\pi}$ für lokale akustische Wellen auf dem Lipid-Monolayer vorhergesagt. Erwartungsgemäß nimmt der Betrag von $\overline{\Delta\pi}$ mit steigender Amplitude B zu. Je nach B liegen die $\overline{\Delta\pi}$ zwischen $\pm 0,1 \frac{mN}{m}$ und bis zu $\pm 1 \frac{mN}{m}$. Für $\pi < 10 \frac{mN}{m}$ sind die zu erwartenden Oberflächendruckänderungen negativ ($\overline{\Delta\pi} < 0$), für $\pi > 10 \frac{mN}{m}$ hingegen positiv ($\overline{\Delta\pi} > 0$). Letztere Eigenschaft bedeutet, dass in Abhängigkeit von den Isothermen und dem gewählten Druck des Systems das Vorzeichen der erwarteten Druckänderungen wechselt. Hier sei noch erwähnt, dass die gewählten Amplituden B in Abbildung 4.3 zwischen 1% und 3% von ρ_0 liegen.

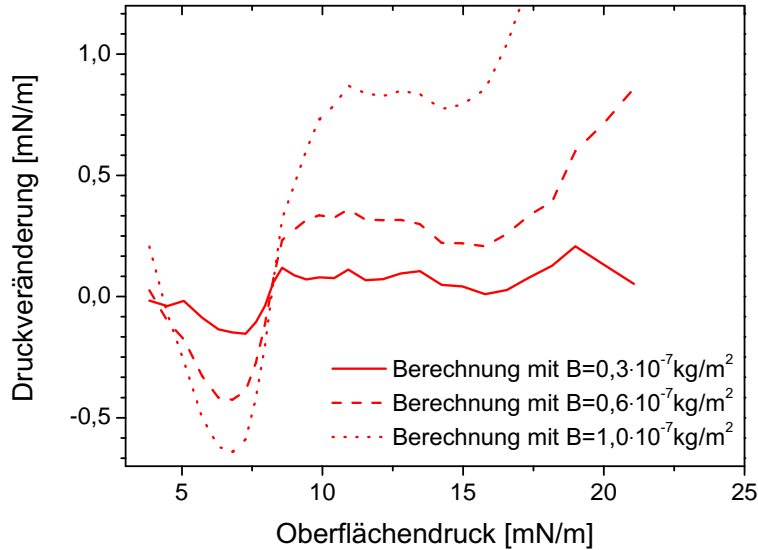


Abbildung 4.3.: Ermittelte lokale Oberflächendruckveränderungen $\overline{\Delta\pi}$ im Verlauf des voreingestellten Druckes π für einen DPPG-Monolayer ($14^\circ C$). Die numerische Berechnung wird für drei verschiedene Wellenamplituden B wie in Gleichung 4.11 dargestellt, durchgeführt.

Für die Erwartungen der vom Drucksensor aufgezeichneten Oberflächendruckänderungen auf Grund der lokalen elektrischen Anregung bedeuten obige Ausführungen folgendes. Wird der Monolayer lokal auf irgendeine Art und Weise zu einem Wellenphänomen angeregt, erhöht oder erniedrigt sich der durchschnittliche Oberflächendruck des Monolayers zumindest am Ort der Anregung. Dies erzeugt einen Oberflächendruckgradienten, dem die Lipide vom höheren zum niedrigeren Druck hin nachfließen (oder expandieren und kondensieren) und den Gradienten dadurch

auszugleichen versuchen. Das wiederum verändert die den nicht angeregten Lipiden zur Verfügung stehende Fläche und expandiert oder komprimiert diese entsprechend, was vom Drucksensor als Druckveränderung registriert werden kann. Mit diesen Darstellungen soll explizit aufgezeigt werden, dass ein lokales Wellenphänomen am Anregungschip genügt um Gleichung 4.11 qualitativ folgende Oberflächendruckveränderungen am Sensor zu erwarten.

4.3.2. Erste Ergebnisse für Oberflächendruck-Frequenz-Spektren

Um die Erwartungen aus Abschnitt 4.3.1 zu überprüfen werden erste Messungen durchgeführt, wie es in Abschnitt 4.2 beschrieben ist. Abbildung 4.4 zeigt dazu Oberflächendruck-Frequenz-Spektren (π - f -Spektren) von reinen Wasseroberflächen und einem DPPG-Monolayer.

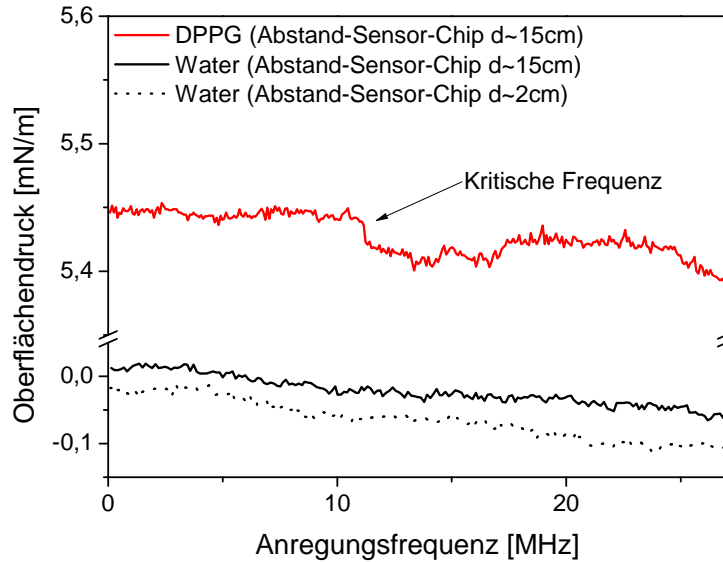


Abbildung 4.4.: π - f -Spektren von zwei Wasseroberflächen und einem DPPG-Monolayer (14°C) auf purem Wasser. Die Messungen der Wasseroberflächen sind mit zwei verschiedenen Sensor-zu-Chip-Abständen von $d \approx 2\text{cm}$ und $d \approx 15\text{cm}$ durchgeführt, wobei für den DPPG-Monolayer wiederum $d \approx 15\text{cm}$ verwendet wird. Die Spektren des reinen Wassers zeigen keinerlei Veränderungen, wohingegen mit dem DPPG-Monolayer tatsächlich eine negative Druckveränderung entsteht. Diese zeigt sich in Form einer Kante bei einer Frequenz, die als kritische Frequenz f_k bezeichnet werden soll.

Die Spektren der reinen Wasseroberflächen dienen zum einen dazu, Veränderungen durch den DPPG-Monolayer eindeutig zuordnen zu können. Zum anderen zum Ausschluß von elektrischem Übersprechen der Radiosignale auf die Elektronik des

Oberflächendrucksensors. Für die reinen Wasseroberflächen sind entsprechend, weder für einen sehr kleinen Sensor-Chip-Abstand von $d \approx 2\text{cm}$ noch für $d \approx 15\text{cm}$, Veränderungen des gemessenen Oberflächendrucks für Anregungsfrequenzen f zwischen 100kHz und 27MHz zu sehen. Dementsprechend kann jede Veränderung die durch das Aufbringen des DPPG-Monolayers entsteht, auch diesem zugeordnet werden.

Tatsächlich zeigt das Spektrum eines DPPG-Monolayers in Abbildung 4.4 eine deutliche Veränderung des gemessenen Oberflächendrucks bei ca. 11MHz . Dort verringert sich der Druck in Form einer Kante um ca. $0,1\frac{\text{mN}}{\text{m}}$. Im folgenden werden die Frequenzen bei denen die Kanten auftreten als kritische Frequenzen f_k bezeichnet.

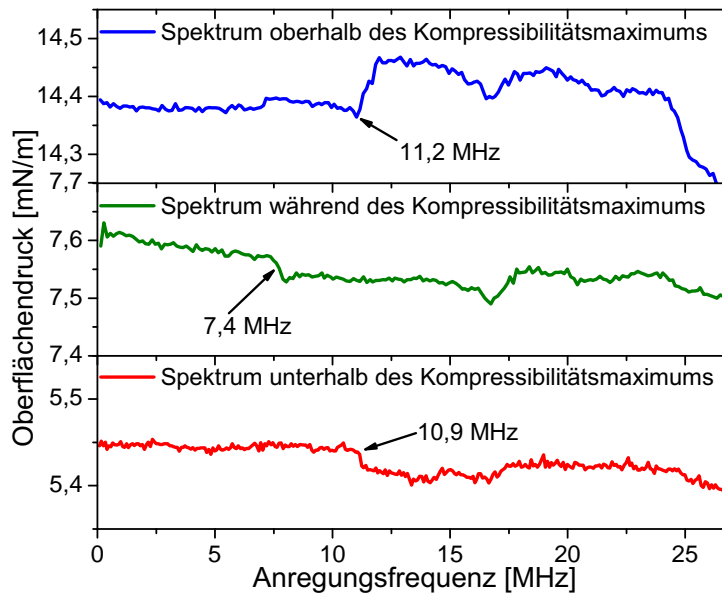


Abbildung 4.5.: π - f -Spektren eines DPPG-Monolayers bei drei verschiedenen zuvor eingestellten, globalen Drücken von $5,5\frac{\text{mN}}{\text{m}}$, $7,6\frac{\text{mN}}{\text{m}}$ und $14,4\frac{\text{mN}}{\text{m}}$. Die auftretende kritische Frequenz liegt für $14,4\frac{\text{mN}}{\text{m}}$ am höchsten bei $11,2\text{MHz}$, am niedrigsten für $7,6\frac{\text{mN}}{\text{m}}$ bei $7,4\text{MHz}$. Letzterer Druck liegt Abbildung 4.2 folgend im Kompressibilitätsmaximum des DPPG-Monolayers. Darüberhinaus zeigt sich im Gegensatz zu den restlichen gezeigten Drücken, für $14,4\frac{\text{mN}}{\text{m}}$ eine positive Druckveränderung, was den Erwartungen nach Abschnitt 4.3.1 entspricht.

Wie Abschnitt 4.3.1 es erwarten lässt, verändert das elektrische Anregen des DPPG-Monolayers den durchschnittlichen messbaren Oberflächendruck. Es ist nicht eindeutig zu sagen, ob diese Veränderung lokal am Anregungschip, oder auf Grund einer am Sensor ankommenden Welle stattfindet. Es zeigt sich jedoch ein Phänomen, das den Erwartungen unter der Annahme einer (ob lokal oder „global“) Welle in Abschnitt 4.3.1 entspricht. Dies wird noch deutlicher, betrachtet man π - f -Spektren

eines DPPG-Monolayer bei verschiedenen zuvor eingestellten globalen Oberflächendrücken. Drei Spektren bei verschiedenen Drücken sind in Abbildung 4.5 zu sehen.

Abbildung 4.5 zeigt, dass die Vorhersage, nach der niedrige Drücke ($< 10 \frac{mN}{m}$) negative Veränderungen, höhere Drücke ($> 10 \frac{mN}{m}$) positive Veränderungen hervorrufen, zutrifft. Mit dem voreingestellten Druck ändern sich außerdem die durch die Druckkanten definierten kritischen Frequenzen f_k . In Abbildung 4.5 ist zu sehen, wie für das Kompressibilitätsmaximum des DPPG-Monolayers bei $7,6 \frac{mN}{m}$ (siehe Abbildung 4.2), unter den dargestellten Spektren, die niedrigste kritische Frequenz von $7,4 MHz$ auftritt.

Für die Interpretation der kritischen Frequenzen können die Anregungschips mit ihrer IDT-Struktur herangezogen werden. Letztere legt durch das Aufeinanderfolgen vieler Elektroden in gleichmäßigem Abstand die Wellenlängen λ der Wellen fest, die vom IDT angeregt werden können (siehe Abschnitt 4.2.1). Dies gilt nicht nur für die SAWs auf dem Substrat, sondern auch für jedes andere, durch die Elektrodenkämme des IDTs, erzeugte Wellenphänomen. Dementsprechend können die kritischen Frequenzen f_k dazu benutzt werden, den einzelnen voreingestellten globalen Oberflächendrücken des Monolayers, Ausbreitungsgeschwindigkeiten c nach $c = f_k \lambda$ zuzuordnen.

4.3.3. Bestimmung und Diskussion der adiabatischen Kompressibilität

Der vorangegangene Abschnitt 4.3.2 legt nahe, dass durch die kritischen Frequenzen eine Ausbreitungsgeschwindigkeit c definiert wird. Entspricht diese der eines akustischen Wellenphänomens, liegt es nahe, dass sie sich entsprechend der Gleichung $c = \sqrt{\frac{1}{\rho \kappa_S}}$, wie sie in Abschnitt 4.1 hergeleitet wird, verhält. Um κ_S zu berechnen kann Gleichung 2.9 benutzt werden, für die κ_T , α_π und c_π bekannt sein müssen. κ_T kann einfach aus den Monolayer-Isothermen berechnet werden, wohingegen α_π und c_π aus weiteren Messungen und Überlegungen bestimmt werden müssen.

Da die Wärmekapazität c_π eines Lipid-Monolayers nicht direkt messbar ist, kann Beziehung 2.11 benutzt werden, die in Gleichung A.19 aus Anhang A.2 detailliert aufgeführt ist. Danach gilt in Näherung, dass $c_\pi = B_\pi A T \alpha_\pi$ mit $B_\pi = 4,1 \cdot 10^{-3} \frac{N}{mK}$. Gleichung 2.9 kann damit umformuliert werden.

$$\kappa_S = \kappa_T - \frac{TA}{c_\pi} \alpha_\pi^2 = \kappa_T - \frac{1}{B_\pi} \alpha_\pi \quad (4.12)$$

Durch die zusätzliche Bestimmung von α_π ist κ_S demnach bereits näherungsweise bestimmbar. α_π lässt sich mit der benutzten Filmwaage messen. Deren Software bietet die Möglichkeit, durch einen Regelkreis, den Druck π durch verändern der Fläche A konstant zu halten und gleichzeitig die Temperatur der Subphase mit Hilfe eines dort eingebrachten Sensors aufzuzeichnen (vgl. Abschnitt 2.4.1). Wird nun die Temperatur des angeschlossenen Wärmebades geändert kann die Funktion $A(T)$ für konstanten Druck π gemessen werden. Diese ermöglicht nach Gleichung 2.7 die Berechnung von $\alpha_\pi(T)$ für jeden betrachteten Druck π . Um zunächst eine Abschätzung für den Einfluss von α_π in Gleichung 4.12 zu bekommen sind in Abbildung 4.6 die Kompressibilitäten κ_S und κ_T von DPPG und der DPPG-DPPC-Mischung im Vergleich zu sehen.

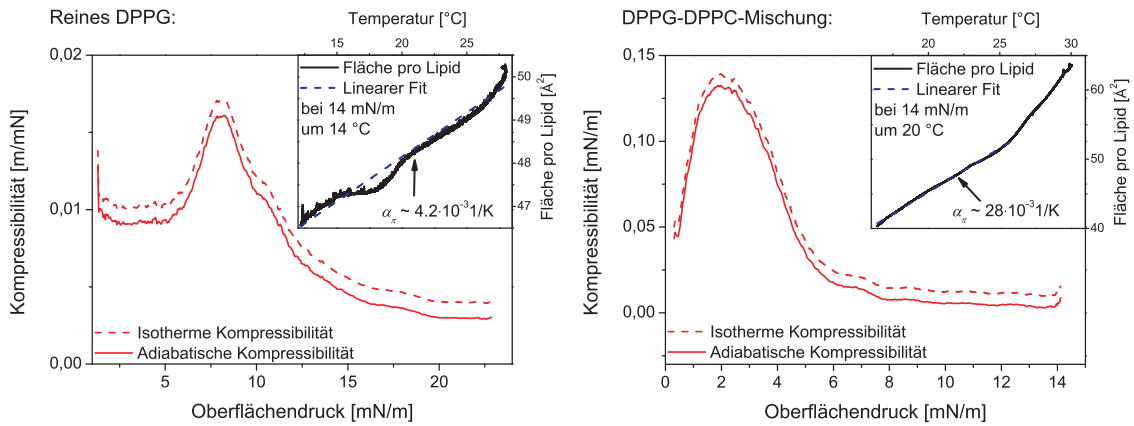


Abbildung 4.6.: Adiabatische Kompressibilitäten κ_S und isotherme Kompressibilitäten κ_T eines reinen DPPG (bei 14°C)- und DPPG/DPPC-Monolayers (10% DPPG in DPPC bei 20°C). Die jeweiligen Insets zeigen die, zur näherungsweisen Berechnung von κ_S (siehe Gleichung 4.12), verwendeten Kurven $A(T)$, die für die Bestimmung der Werte von α_π benutzt werden. Für beide Monolayer-Typen wird näherungsweise nur der konstant gehaltene Druck während der $A(T)$ -Kurven bei $14 \frac{mN}{m}$ benutzt. Es ist zu sehen, dass κ_S stets unterhalb von κ_T liegt.

Die Insets in Abbildung 4.6 zeigen die $A(T)$ für einen konstanten Oberflächendruck von $14 \frac{mN}{m}$, die zur Bestimmung des einzelnen α_π -Wertes zur Abschätzung von κ_S benutzt werden. Die sich ergebenden Näherungen für die κ_S -Kurven zeigen, dass letztere stets unter den korrespondierenden κ_T -Kurven liegen. Die gewählten Werte für α_π sind außerhalb der Kompressibilitätsmaxima von κ_T quantitativ gute Näherungen. Während des Maximums hingegen sind die Werte von α_π größer zu erwarten. Dies bedeutet, dass das Kompressibilitätsmaximum von κ_S niedriger ist, als es die Kurven in Abbildung 4.6 andeuten. Das heisst, dass der Übergang von der isothermen zur adiabatischen Kompressibilität im allgemeinen $\kappa_S < \kappa_T$ und ein relatives Verkleinern des Kompressibilitätsmaximums von κ_S gegenüber κ_T bedeutet. Dieses Verhalten wird sich in Kapitel 5 nochmals auf anderem Wege zeigen.

Um die aufwendige Bestimmung von κ_S nach obigem Schema zu vereinfachen, zeigt Abbildung 4.6, dass als gute Abschätzung von κ_S schlicht κ_T verwendet werden kann. Einzig während den Kompressibilitätsmaxima liefert diese Näherung deutlich zu große Werte für κ_S .

4.3.4. Wellengeschwindigkeiten ermittelt aus Spektren und der adiabatischen Kompressibilität

Wie in Abschnitt 4.3.2 bereits beschrieben, lassen sich den kritischen Frequenzen f_k der π - f -Spektren der elektrischen Anregung, Ausbreitungsgeschwindigkeiten $c = f_k \lambda$ zuordnen. Gleichmaßen würde man für akustische Wellen auf Monolayern $c = \sqrt{\frac{1}{\rho \kappa_S}}$ erwarten. Diese beiden Methoden, Wellenphänomenen Ausbreitungsgeschwindigkeiten zuzuordnen, sind völlig unabhängig voneinander. Ihre Ergebnisse können dennoch miteinander verglichen werden. Eine Reihe von π - f -Spektren für verschiedene Drücke π wird dazu nach ihren kritischen Frequenzen analysiert. Abbildung 4.7 zeigt die so nach $c = f \lambda$ ermittelten Wellengeschwindigkeiten als diskrete Messpunkte.

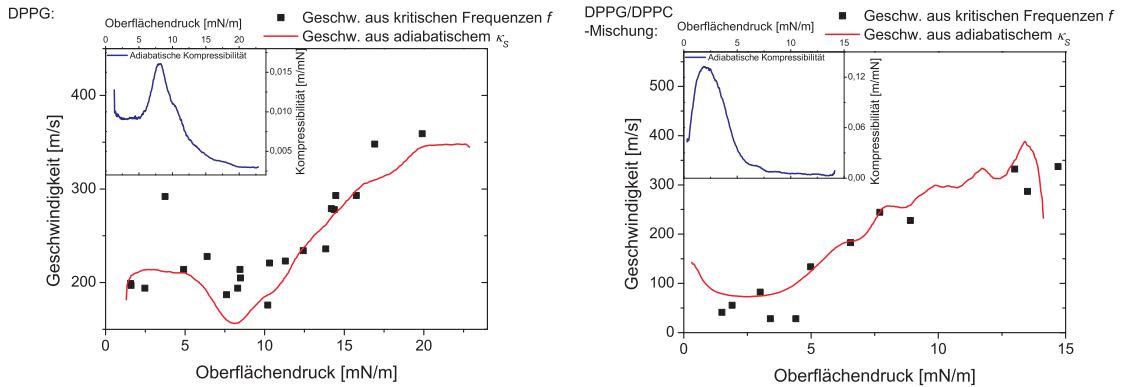


Abbildung 4.7.: Wellengeschwindigkeiten für DPPG (14°C) und DPPG/DPPC-Monolayer (20°C). Die Geschwindigkeiten werden zum einen direkt aus den π - f -Spektren nach $c = f_k \lambda$ ermittelt. Zum anderen nach $c = \sqrt{\frac{1}{\rho \kappa_S}}$ aus den adiabatischen Kompressibilitäten. Die jeweiligen Inset Graphen zeigen die verwendeten, genäherten Kompressibilitäten κ_S aus Abschnitt 4.3.3.

Die direkt aus den f_k ermittelten Wellengeschwindigkeiten der DPPG- und DPPG/DPPC-Monolayer zeigen beide ein oberflächendruckabhängiges Verhalten. Dennoch unterscheiden sich die ermittelten Geschwindigkeitsverläufe des reinen Lipids und der Mischung. Die DPPG/DPPC-Mischung zeigt Minimalgeschwindigkeiten bis unter $50 \frac{m}{s}$, im Gegensatz zu DPPG mit Minimalwerten größer als $150 \frac{m}{s}$. Die Lipidspezifität unterstreicht nochmals, dass die beobachteten Spektren mit ihren kritischen Frequenzen f_k den Monolayern zuzuordnen sind.

Der jeweilige Verlauf der „direkten“ Geschwindigkeitskurven nach $c = f_k \lambda$ entspricht Abbildung 4.7 folgend den Erwartungen aus der adiabatischen Kompressibilität κ_S . Zwar sind die „direkt“ ermittelten Werte für c nicht exakt auf den Kurven nach $c = \sqrt{\frac{1}{\rho \kappa_S}}$, liegen aber in einem kleinen Fenster um diese ($\pm 15\%$). Das bedeutet, dass das Verhalten, der durch die Anregung erzeugten f_k , den Erwartungen eines akustischen Wellenphänomens auf den Lipid-Monolayern entsprechen. Dementsprechend durchlaufen die Wellengeschwindigkeiten aus $c = f_k \lambda$ ein Minimum während des Kompressibilitätsmaximums und nehmen mit sinkender Kompressibilität stark zu.

Die elektrisch angeregten Wellenphänomene zeigen ein, der einfachen akustischen Wellentheorie folgendes, Verhalten und deuten wegen der fehlenden Dämpfung in dieser Theorie an, dass die Monolayer bei den verwendeten Anregungsfrequenzen im *MHz*-Bereich von der viskosen Wassersubphase stark entkoppeln. Dieser Aspekt soll im folgenden Abschnitt 4.3.5 weiter diskutiert werden.

4.3.5. Entkopplung des Wellenphänomens von der Wassersubphase und dessen Dämpfung

Drei Aspekte sollten im Sinne der Dämpfung eines akustischen Wellenphänomens auf einem Lipid-Monolayer diskutiert werden:

- Wie kann ein akustisches Wellenphänomen im Monolayer erhalten bleiben ohne in die Wassersubphase zu dissipieren?
- Wie koppelt der Monolayer mechanisch an eine viskose Wassersubphase?
- Wie koppelt der Monolayer thermisch an die Wassersubphase?

Die Situation wird in Abbildung 4.8a) veranschaulicht. Dort sind sowohl thermische wie auch viskose Kopplungen an die Wassersubphase durch die jeweiligen Penetrationstiefen gekennzeichnet. Letztere beschreiben die Dicke der Wasserschicht, die direkt durch die Wärme oder die Bewegung des Monolayers beeinflusst wird.

Erhaltung im Monolayer. Geht man von einem Wellenphänomen aus, das einer im Monolayer laufenden Welle entspricht, wird letztere an der Grenzfläche zum Wasser gebrochen und reflektiert. Im Idealfall kommt es zur Totalreflexion an der Monolayer-Wasser-Grenzfläche (oder Monolayer-Luft-Grenzfläche). Die Bedingung für den Einfallswinkel Θ (gemessen zum Lot der Grenzfläche) um Totalreflexion zu erzeugen, wird in Anhang A.8 kurz hergeleitet und ist gegeben durch:

$$\Theta > \arcsin \frac{c_1}{c_2} \quad (4.13)$$

4.3. Experimente zur elektrischen Anregung

Wobei c_1 die Ausbreitungsgeschwindigkeit akustischer Wellen im Monolayer und c_2 akustischer Wellen im Wasser (oder der Luft) ist. Mit $c_1 \approx 150 \frac{m}{s}$ (vgl. Abschnitt 4.3.4) und $c_2 \approx 1500 \frac{m}{s}$ (oder für Luft $\approx 350 \frac{m}{s}$) ergibt sich $\Theta > 5^\circ$ (oder für Luft $\Theta > 25^\circ$). Bei einer Wellenlänge von $\approx 20 \mu m$ und einer Monolayerdicke von $\approx 3 nm$ [14], ist diese Bedingung stets erfüllt. Eine akustische Welle bliebe also im Monolayer erhalten und deutet darauf hin, dass die erzeugten Wellenphänomene in den Monolayern selbst beherbergt sind.

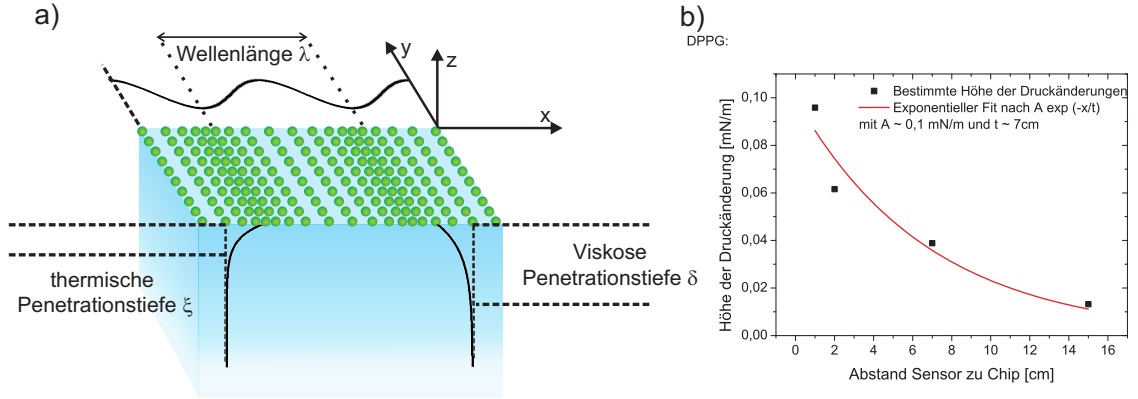


Abbildung 4.8.: a) Veranschaulichung der verschiedenen Kopplungen an die Wassersubphase. Sowohl thermische als auch viskose Kopplungen sind möglich. b) Gemessene Höhen der Druckveränderungen in den π - f -Spektren von DPPG in Abhängigkeit vom Abstand von Sensor zu Anregungschip. Die benutzten Spektren werden bei einem Druck von ca. $14 \frac{mN}{m}$ aufgezeichnet. Selbst im Abstand von mehreren cm zeigen sich die Druckänderungen noch. Zusätzlich ist ein exponentieller Fit nach der Funktion $Ae^{\frac{x}{t}}$ eingetragen mit den Parametern $A \approx 0,1 \frac{mN}{m}$ und $t \approx 7 cm$.

Mechanisch, viskose Kopplung. Bei einem Wellenphänomen in einem Lipid-Monolayer kommen dessen Lipide in Bewegung und zerren so einen Teil der Wasseroberfläche mit sich. Wie in Kapitel 5 in Abschnitt 5.1 gezeigt wird ergibt sich so eine viskose Penetrationstiefe δ .

$$\delta = \sqrt{\frac{2\eta}{\rho\omega}} \quad (4.14)$$

In Gleichung 4.14 ist η und ρ die Viskosität und Dichte der Wassersubphase, wobei ω die Frequenz des Monolayer-Wellenphänomens darstellt. Für eine Frequenz von ca. $10 MHz$ ergibt sich $\delta \approx 300 nm$ [18]. Vergleichsweise entspricht die Monolayerdicke etwa $\approx 3 nm$ [14]. D.h. man erwartet eine Dämpfung durch die viskose Subphase. Ein Hinweis auf die Größe und Eigenheiten dieser Dämpfung für die durchgeführte, elektrische Anregung ist in Abbildung 4.8b) zu sehen, die die Höhe der Druckänderung bei den kritischen Frequenzen f_k in Abhängigkeit des Abstandes von Sensor zum Anregungschip zeigt. Zur besseren Abschätzung ist zusätzlich ein exponentieller Fit nach $Ae^{\frac{x}{t}}$ mit den Parametern $A \approx 0,1 \frac{mN}{m}$ und $t \approx 7 cm$ angegeben. Die

Druckänderungen können demnach noch in einem Abstand von mehreren *cm* gemessen werden, was einem Vielfachen der angenommenen Wellenlänge von $\lambda \approx 20\mu\text{m}$ entspricht. Ob das beobachtete Wellenphänomen diesen Weg aber tatsächlich entlangläuft oder nur das Auftreten einer lokalen Druckveränderung des Monolayers am Anregungschip beobachtet wird, kann hier nicht eindeutig geklärt werden und wird deshalb im folgenden Abschnitt 4.3.6 genauer diskutiert.

Thermische Kopplung. Ändert sich die Dichte und damit der Druck während eines Wellenphänomens periodisch, so muss sich im selben Zug die Temperatur mit ändern. Geschieht dies nahezu adiabatisch, kann Gleichung 4.9 angewendet werden um die Temperaturänderungen zu quantifizieren. Für die folgende Abschätzung genügt es einen einzigen örtlichen Punkt der Welle zu betrachten. An diesem Punkt ergibt sich nach Gleichung 4.9 eine Temperaturschwankung der Form $T = T_0 e^{i\omega t}$ mit einer Konstanten T_0 . Diese koppelt thermisch an die Subphase und ihre Umgebung.

Zunächst soll die Wärmeleitung in der Monolayerebene, in der das Wellenphänomen auftritt, betrachtet werden. Zerfließt die Wärme schneller als die Periode des Wellenphänomens andauert, würde letzteres auch zerfließen. Anhang A.9 folgend ist die Strecke l , die sich die Wärme in der Periode $\tau = \frac{1}{f}$ ausbreiten kann, durch folgenden Term gegeben.

$$l \approx \sqrt{\chi\tau} \quad (4.15)$$

Dabei ist $\chi = \frac{a}{c_\pi \rho}$ die Temperaturleitfähigkeit der Membran, wobei a ihre Wärmeleitfähigkeit und c_π ihre Wärmekapazität bei konstantem Druck π ist. Da der Monolayer stark mit der Wassersubphase verbunden ist, kann dessen Wärmeleitfähigkeit durch die von Wasser abgeschätzt werden. Nimmt man für a des Monolayers einen 10 mal höheren Wert als für Wasser mit $a \approx 6 \frac{\text{J}}{\text{mKs}}$ an und eine Wärmekapazität von durchschnittlich $c_\pi \approx 10 \frac{\text{kJ}}{\text{kgK}}$ [14] bei einer dreidimensionalen Dichte von $\rho \approx 1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$ [14], so ergibt sich $l \approx 200\text{nm}$ für eine Frequenz von $\frac{1}{\tau} = f \approx 10\text{MHz}$. Das bedeutet, dass ein Wellenphänomen im Monolayer nicht einfach lateral, thermisch zerfließen wird (dies folgt auch für Wellenphänomene mit Frequenzen $f < 10\text{kHz}$ und Ausbreitungsgeschwindigkeiten $c > 0,1 \frac{\text{m}}{\text{s}}$, wie sie im folgenden Kapitel 5 auftreten, denn dann gilt sicher: $\lambda = \frac{c}{f} > \frac{0,1}{10000} \text{m} \approx 0,00001\text{m} \geq \frac{0,001}{\sqrt{10000}} > \sqrt{\frac{\chi}{f}} = l$).

Abschließend gilt es noch die Wärmeleitung in die Wassersubphase zu betrachten. Befindet sich der Monolayer in der xy -Ebene bei $z = 0$, so zeigt Anhang A.9, dass an einem Punkt die Temperaturverteilung in der Subphase auf Grund von Schwan-
kungen $T = T_0 e^{i\omega t}$ folgende Form annimmt:

$$T = T_0 e^{-z\sqrt{\frac{\omega}{2\chi}}} e^{i\left(\omega t - z\sqrt{\frac{\omega}{2\chi}}\right)} \quad (4.16)$$

Damit lässt sich eine thermische Penetrationstiefe ξ definieren:

$$\xi = \sqrt{\frac{2\chi}{\omega}} \quad (4.17)$$

Für Wasser ergäbe sich mit $a \approx 0,6 \frac{J}{mKs}$, $c_p \approx 4,2 \frac{kJ}{kgK}$ und $\rho \approx 1000 \frac{kg}{m^3}$ bei einer Frequenz von $10MHz$, dass $\xi \approx 100nm$. Dies bedeutet, dass die Wärme eines ständig angeregten Monolayers nur in einem dünnen Wasserfilm unter der Oberfläche verändert würde. Hier muss aber betont werden, dass die Temperaturverteilung nach Gleichung 4.16 zwar ein Temperaturmuster beschreibt, das durch die entsprechenden Temperaturänderungen des Monolayers entstehen würde, aber nicht das Abfließen der Wärme des Monolayers in die Subphase (die Temperaturänderungen oszillieren ins Positive und Negative).

Zusammenfassend zeigt sich, unabhängig von der genauen Natur der elektrisch erzeugten Wellenphänomene, dass deren Energie und Wärme bei den untersuchten hohen Frequenzen (MHz) sehr stark im Monolayer konserviert werden.

4.3.6. Interpretation und Diskussion des beobachteten Wellenphänomens

Abschließend soll noch versucht werden, die Frage zu beantworten, warum scharfe Kanten und keine stetigen Maxima oder Minima in den π - f -Spektren entstehen, bzw. was die genaue Natur der elektrisch angeregten Wellenphänomene auf den Monolayern ist.

Für eine akustische Welle, die vom IDT des Anregungschips ausgeht, würde man nach dem Huygen'schen Prinzip erwarten, dass je näher man der Frequenz f , die der Wellenlänge λ des IDT entspricht, kommt, desto größer die Amplitude der Welle wird. Nach Gleichung 4.11 und Abbildung 4.3 würde man das selbe Verhalten für die in den π - f -Spektren gemessene durchschnittliche Druckveränderung $\overline{\Delta\pi}$ erwarten. Die π - f -Spektren zeigen aber, dass sich der Druck schlagartig in Form einer Kante verändert.

Eine Erklärung für dieses Verhalten wäre, dass der Monolayer lokal am Chip auf Grund einer angeregten akustischen Welle zu „reißen“ oder „kollabieren“ beginnt. Dies würde die Kantenform erklären, gleichzeitig aber auch bedeuten, dass das Wellenphänomen nicht über mehrere cm propagiert, sondern lokal am Anregungschip selbst entsteht. Solange der Monolayer dort erfolgreich angeregt würde, würde das „Reißen“ oder „Kollabieren“ und damit die Druckveränderung aufrechterhalten, bis

die Anregung, wegen Frequenzen, die keine akustische Welle mehr anregen können, schließlich nicht mehr möglich wäre und der Monolayer relaxieren würde. Die Abstandsabhängigkeit in Abschnitt 4.3.5 wäre dann das Ergebniss des Druckgradienten der durch die lokale Druckänderung am Chip entstehen würde. Wie es zu einem solchen „Reißen“ kommen kann, soll hier noch kurz genauer diskutiert werden.

Nach 4.8 kann die Geschwindigkeitsänderung v der Lipide in einer akustischen Welle bestimmt werden, wenn die Amplitude der Dichteschwankungen ρ' bekannt ist. Da die Kanten der π - f -Spektren durchschnittlich eine Höhe von $0,02 - 0,2 \frac{mN}{m}$ haben, kann nach Abschnitt 4.3.1 und Abbildung 4.3 abgeschätzt werden, dass als untere Grenze $\rho' \approx 0,3 \cdot 10^{-7} \frac{kg}{m^2}$, wobei $\rho_0 \approx 2 \cdot 10^{-6}$. Damit folgt für eine akustische Welle mit $\lambda \approx 20\mu m$ und $f \approx 10MHz$, dass $v \approx 3 \frac{m}{s}$. Dies bedeutet in der Periode eines Wellenzyklus würde ein Lipid maximale Beschleunigungen von $3 \cdot 10^7 \frac{m}{s^2}$ erfahren und bis zu $300nm$ zurücklegen. Diese Strecke entspricht näherungsweise dem 300-fachen der Lipidgröße selbst. Es liegt nahe, dass die Lipide einer solch rapiden Bewegung nicht folgen können und so ausweichen werden, so dass sie der Anregung entgehen. Darüber hinaus ist für Lipidmembranen bekannt, dass die Scherviskosität und elastische Viskosität unter den Lipiden mit steigender Frequenz stark abnimmt [84, 85], was eine solche Anordnung zusätzlich vereinfachen würde.

Schließlich bleibt noch zu klären, wie es bei einem „Reißen“ dazu kommen kann, dass die Kanten je nach Druck π negativ oder positiv sind, wie man es in Abschnitt 4.3.2 Abbildung 4.5 beobachten kann. Wie Abbildung 4.3 zeigt, ist für einen bestimmten Druck π eine bestimmte Druckveränderung $\overline{\Delta\pi}$ zu erwarten. Diese bestimmt ob die Lipide weiter auseinander, oder weiter zusammen kommen, denn nach Abschnitt 4.1 sind Druckveränderungen unweigerlich mit Dichteänderungen im Monolayer verbunden. Dementsprechend würden die Lipide bei einer Umordnung entweder zusammen- oder auseinanderrücken, um der Anregung zu entgehen. Damit könnten also sowohl Druckanstiege, als auch Druckabfälle erklärt werden.

Zusammengefasst könnten die Kanten in den π - f -Spektren also tatsächlich als „Reißen“ oder „Kollabieren“ des Monolayers auf Grund der Anregung einer akustischen Welle auf ihm gedeutet werden. Dies bedeutet zwar, dass es zu keiner klassischen Propagation einer Welle über weite Distanzen im Monolayer kommen würde, rechtfertigt aber dennoch die Stimmigkeit der akustischen Interpretation. Darüberhinaus ist anzunehmen, dass sich das angeregten Wellenphänomen trotzdem über einen bestimmten Bereich hinweg ausbreiten würde, da lokale Druckveränderungen von $\overline{\Delta\pi}$ von $0,1 \frac{mN}{m}$ die Veränderung der gesamten Monolayerfläche um näherungsweise $0,5 - 1cm^2$ bedeuten würden. Diese Abschätzung ergibt sich daraus, dass für eine Druckveränderung von $30 \frac{mN}{m}$ während einer Isotherme bei der verwendeten Filmwaa-

ge eine Kompression um etwa 200cm^2 notwendig ist. Damit würde man also immer noch auf eine Ausbreitung des lokalen Phänomens um etwa $0,1 - 1\text{cm}$ schließen, was einem Vielfachen der durch den IDT implizierten Wellenlänge entspricht.

Zusammengefasst kann obige Interpretation also wesentliche und diffizile Details der vorliegenden elektrischen Anregung beschreiben, zeigt aber gleichzeitig, dass eine akustische Interpretation dieses Wellenphänomens gerechtfertigt ist, auch wenn es vermutlich zu keiner klassischen Wellenausbreitung kommt.

4.4. Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die elektrische Anregung hochfrequenter Wellenphänomene auf Lipid-Monolayern untersucht. Das wesentliche experimentelle Prinzip bestand darin, kammartig angeordnete Elektroden, so genannte interdigital Transducer (IDTs), mit einer hochfrequenten Wechselspannung zu betreiben und gleichzeitig an den Monolayer zu koppeln. Durch das periodische elektrische Feld werden die Ladungen der Lipide bewegt, so dass Wellenphänomene im Monolayer angeregt werden.

Zunächst wurde die theoretische Beschreibung einer akustischen Welle im Monolayer durchgeführt und gezeigt wie Dichteschwankungen, Druckschwankungen, Teilchengeschwindigkeiten und Temperaturschwankungen direkt zusammenhängen. Anschließend wurde gezeigt, welche durchschnittlichen Oberflächendruckänderungen auf Grund eines lokalen Wellenphänomens im Monolayer zu erwarten sind. Mit Hilfe der Isothermen der verwendeten Lipid-Monolayer ergaben numerische Rechnungen, dass, je nach globalem, voreingestelltem Oberflächendruck des Monolayers, eine positive oder negative Druckveränderung $\overline{\Delta\pi}$ am Drucksensor zu erwarten ist.

Bei der folgenden experimentellen Anregung im *MHz*-Bereich entstanden Druck-Frequenz-Spektren (π - f -Spektren), die tatsächlich Druckveränderungen $\overline{\Delta\pi}$ bei verschiedenen Anregungsfrequenzen f zeigen. Für die verschiedenen Monolayer ergaben sich Druckkanten bei bestimmten kritischen Frequenzen f_k , deren Höhe und Position sich je nach voreingestelltem Oberflächendruck π änderte. Es zeigten sich positive und negative $\overline{\Delta\pi}$, die den zuvor gemachten Erwartungen entsprachen. Daneben verschoben sich die f_k mit π , so dass mit Hilfe der durch den IDT vorgegebenen Wellenlänge λ diesem π eine Ausbreitungsgeschwindigkeit $c = f_k \lambda$ zugeordnet werden konnte. Letztere konnte nun mit den Geschwindigkeiten, die sich aus der adiabatischen Kompressibilität κ_S nach $c = \sqrt{\frac{1}{\rho\kappa_S}}$ ergeben, verglichen werden. Die Bestimmung von κ_S wurde indirekt durch Messung der isothermen Kompressibilität κ_T und des isobaren Ausdehnungskoeffizienten α_π durchgeführt. Die zwei völlig unabhängigen

Methoden zur Bestimmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Wellenphänomens zeigten gute Übereinstimmung für alle verwendeten Lipid-Monolayer.

Im letzten Teil dieses Kapitels wurde die Dämpfung und die Subphasenankopplung des beobachteten Wellenphänomens diskutiert und interpretiert. Es wurde abgeschätzt, dass akustische Monolayer-Wellenphänomene im vorliegenden *MHz*-Frequenzbereich sowohl viskos, als auch thermisch stark von ihrer Wassersubphase entkoppeln. Die mit dem Monolayer thermisch und viskos wechselwirkende Wassergrenzschicht wäre nur wenige *100nm* dick, wobei das Wellenphänomen selbst durch Totalreflexion im Monolayer konserviert würde. Zum Abschluss wurde eine Interpretation der elektrisch angeregten Wellenphänomene gegeben und zunächst aufgezeigt, dass man für rein akustische, sich ausbreitende Wellen keine Druckkanten, sondern stetige Druck-Minima und Maxima erwarten würde. Es wurde die Beschreibung der Kanten als „Reißen“ oder „Kollabieren“ der Membran durch das Anregen eines lokal am Chip auftretenden akustischen Wellenphänomens vorgeschlagen. Diese Beschreibung könnte sowohl die Kanten selbst, als auch deren Vorzeichen erklären. Letztere Interpretation deutete auf keine klassische Wellenausbreitung bei den vorgestellten, elektrisch angeregten Wellenphänomenen hin. Genau aus diesem Grund soll im folgenden Kapitel 5 die direkte Messung von sich ausbreitenden Druckpulsen auf Monolayern die zentrale Rolle spielen.

Kapitel 5: Natürliche Anregung von Lipid-Monolayern

Im vorangegangenen Kapitel 4 wurde eine Methode zur elektrischen Monolayeranregung beschrieben. Diese wurde bei sehr hohen Frequenzen (MHz) und kleinen Wellenlängen (μm) durchgeführt und hat deshalb nur bedingt Bezug zu biologischen Systemen. Um möglichst nahe an ein natürliches biologisches System heranzukommen wird in diesem Kapitel ein System zur Anregung von Lipidmembranen vorgestellt, das auf der Verwendung von natürlichen Substanzen beruht. Dieses wird im Folgenden nach und nach aufgebaut, wobei es in direktem Bezug zu biologischen Systemen, im speziellen zum synaptischen Spalt von Nervenzellen, steht.

5.1. Theorie zur Akustik von Lipid-Monolayern auf viskosen Subphasen

Die folgende Darstellung erweitert die Beschreibungen aus Abschnitt 4.1. Dazu wird die viskose Kopplung des Monolayers an die Subphase mitberücksichtigt. Anschließend wird der hochfrequente Grenzfall (vergleichbar zu Abschnitt 4.1) und der niederfrequente Grenzfall, der ursprünglich bereits in [25, 24, 86, 87, 26] angesprochen und behandelt wurde, diskutiert. Letzterer stellt die theoretischen Grundlagen der Messungen dieses Kapitels dar.

5.1.1. Theoretische Beschreibung

Es sei der selbe Ausgangspunkt wie in Abschnitt 4.1 gewählt, in dem mit ρ' und π' die kleinen Schwankungen von Dichte und Oberflächendruck, auf Grund einer sich auf einem Monolayer ausbreitenden Welle, bezeichnet werden. Wieder sind π' und ρ' über $\rho' = \left(\frac{\partial \pi_0}{\partial \rho_0}\right)_S^{-1} \pi'$ miteinander verknüpft, wobei $\left(\frac{\partial \pi_0}{\partial \rho_0}\right)_S^{-1}$ und damit κ_S weder frequenz- noch amplitudenabhängig sei. Es wird eine Ausbreitung in x -Richtung betrachtet und die Geschwindigkeit der Monolayerteilchen explizit mit v_{mx} bezeichnet. Wie zuvor in Abschnitt 4.1 gilt die Kontinuitätsgleichung in ihrer vereinfachten Form.

$$\frac{\partial \rho'}{\partial t} = -\rho_0 \frac{\partial v_{mx}}{\partial x} \quad (5.1)$$

Mit $\rho' = \left(\frac{\partial \pi_0}{\partial \rho_0}\right)_S^{-1}$ lässt sich diese analog zu Abschnitt 4.1 folgendermaßen umformen.

$$\frac{\partial \pi'}{\partial t \partial x} = -\frac{1}{\kappa_S} \frac{\partial^2 v_{mx}}{\partial x^2} \quad (5.2)$$

Im Gegensatz zu Abschnitt 4.1 soll nun die viskose Kopplung des Monolayers an die Subphase mitberücksichtigt werden. Die Kopplung entspricht einer zusätzlichen Kraft, die in die Euler-Gleichung mit eingeht. Diese Kraft soll als direkt proportional zur Geschwindigkeit v_{mx} der Lipide angenommen werden. Dies lässt sich durch die viskose Kraft, durch eine Flüssigkeit zwischen zwei Platten (hier der Monolayer und der Boden des Filmwaagentroges), die sich relativ zueinander bewegen, veranschaulichen. Haben die Platten den Abstand d , die Geschwindigkeit v zueinander und die Flüssigkeit die Viskosität η , gilt für die Scherspannung τ zwischen den Platten das Newtonsche Viskositätsgesetz $\tau = \eta \frac{v}{d} \propto v$. Deshalb soll hier zunächst vorausgesetzt werden, dass mit einer Konstante ξ , eine zusätzliche Spannung ξv_{mx} in die Euler-Gleichung einfließt, die damit folgende Form annimmt.

$$\begin{aligned} \rho_0 \frac{\partial v_{mx}}{\partial t} &= -\frac{\partial \pi'}{\partial x} - \xi v_{mx} \\ \implies \frac{\partial \pi'}{\partial t \partial x} &= -\rho_0 \frac{\partial^2 v_{mx}}{\partial t^2} - \xi \frac{\partial v_{mx}}{\partial t} \end{aligned} \quad (5.3)$$

Gleichsetzen mit Gleichung 5.2 ergibt die Wellengleichung des viskos gekoppelten Monolayers:

$$\frac{\partial^2 v_{mx}}{\partial t^2} + \frac{1}{\rho_0} \xi \frac{\partial v_{mx}}{\partial t} - c_0^2 \frac{\partial^2 v_{mx}}{\partial x^2} = 0 \quad (5.4)$$

Hier ist ρ_0 die Oberflächendichte des Monolayers und $c_0 = \sqrt{\frac{1}{\rho_0 \kappa_S}}$ die aus Abschnitt 4.1 bekannte Ausbreitungsgeschwindigkeit einer rein akustischen Welle. Die Differentialgleichung lässt sich mit dem Wellen-Ansatz $v_{mx} = A e^{i(\omega t - kx)}$ lösen. Durch Einsetzen in Gleichung 5.4 ergibt sich die Dispersionsrelation, die den Wellenvektor k und die Frequenz ω in Beziehung zueinander setzt.

$$\begin{aligned} -\omega^2 + i\omega \xi \frac{1}{\rho_0} + c_0^2 k^2 &= 0 \\ \implies k^2 &= \frac{\omega^2}{c_0^2} \left(1 - \frac{1}{\rho_0} \frac{i\xi}{\omega}\right) \end{aligned} \quad (5.5)$$

Der komplexe Teil von k quantifiziert die Dämpfung β der Welle auf Grund der viskosen Kopplung, die durch ξ ausgedrückt wird. Wäre $\xi = 0$ ergäbe sich die selbe Dispersionsrelation $c_0^2 = \frac{\omega^2}{k^2}$ wie in Abschnitt 5.4 für eine rein akustische Welle. Es bleibt nun noch die Konstante ξ zu bestimmen. Diese muss sich aus der viskosen

Bewegung der Wassersubphase unter dem Monolayer ergeben. Generell wird solch eine viskose Bewegung durch die Navier-Stokes-Gleichung beschrieben.

$$\rho_w \left(\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + (\vec{v} \nabla) \vec{v} \right) = -\nabla p + \eta_w \nabla^2 \vec{v} \quad (5.6)$$

Hier beschreibt ρ_w die Dichte des Wasser, η_w seine Viskosität und p und \vec{v} Druck und Geschwindigkeit. Für den vorliegenden Fall genügt es den inkompressiblen Fall ($\nabla p = 0$) für kleine Schwankungen in einer Dimension (x -Richtung) zu betrachten ($(\vec{v} \nabla) \vec{v} = 0$, vgl. Vereinfachung der Euler Gleichung aus Abschnitt 4.1). Für die Wassergeschwindigkeit v_{wx} gilt demnach:

$$\frac{\partial v_{wx}}{\partial t} = \frac{\eta_w}{\rho_w} \frac{\partial^2 v_{wx}}{\partial z^2} \quad (5.7)$$

Der Monolayer soll in der xy -Ebene und das Wasser in negativer z -Richtung (es wird nur $z < 0$ betrachtet) darunter liegen. Eine Randbedingung für das Wasser ist durch seine Kopplung an den Monolayer bestimmt. Bei $z = 0$ muss deshalb $v_{wx} = v_{mx}$ gelten. Dies impliziert den Ansatz $v_{wx} = A e^{i(\omega t - kx)} e^{mz}$ zur Lösung von Gleichung 5.7. Einsetzen liefert folgende Relation für m .

$$i\omega = \frac{\eta_w}{\rho_w} m^2 \stackrel{z < 0 \Rightarrow m > 0}{\implies} m = \sqrt{\frac{i\omega\rho_w}{\eta_w}} = e^{i\frac{\pi}{4}} \sqrt{\frac{\omega\rho_w}{\eta_w}} = \sqrt{\frac{\omega\rho_w}{2\eta_w}} + i \sqrt{\frac{\omega\rho_w}{2\eta_w}} \quad (5.8)$$

Der reale Anteil von m definiert die in Abschnitt 4.3.5 verwendete viskose Penetrationstiefe durch $\frac{1}{\Re(m)}$. Der imaginäre Anteil dagegen beschreibt eine periodische Bewegung des Wassers auf Grund der periodischen Bewegung bei $z = 0$. Das Wasser wird demnach, je nach Tiefe z , in verschiedenen Phasen zum Monolayer schwingen, wobei die Amplituden der Schwingungen exponentiell mit z abnehmen. Nimmt man an, dass die oberste Wasserschicht direkt an den Monolayer gebunden ist, müssen die viskosen Kräfte $\eta_w \left[\frac{\partial v_{wx}}{\partial y} \right]_{z=0}$ des Wassers bei $z = 0$ der zuvor definierten Kraft ξv_{mx} entsprechen. Damit kann ξ bestimmt werden.

$$\xi v_{mx} = \eta_w \left[\frac{\partial v_{wx}}{\partial y} \right]_{z=0} = \eta_w m v_{mx} \implies \xi = \eta_w m = e^{i\frac{\pi}{4}} \sqrt{\omega\rho_w\eta_w} \quad (5.9)$$

Somit nimmt ξ die Form einer komplexen Konstante an, um die Randbedingungen zur, unter dem Monolayer liegenden, Wassersubphase erfüllen zu können. Die Dispersionsrelation 5.5 kann jetzt in ihrer entgeltigen Form formuliert werden, in der nur vom System bekannte Parameter vorkommen. Diese sind $c_0 = \sqrt{\frac{1}{\rho_0 \kappa_S}}$, die Ausbreitungsgeschwindigkeit einer rein akustischen Welle auf dem Monolayer, ρ_0 , die Oberflächendichte des Monolayers, η_w , die Viskosität des Wasser und ρ_w die Dichte des Wassers.

$$k^2 = \frac{\omega^2}{c_0^2} \left(1 - \frac{1}{\rho_0} e^{i\frac{3\pi}{4}} \sqrt{\frac{\rho_w \eta_w}{\omega}} \right) \quad (5.10)$$

Aus dieser Gleichung kann der Realteil des Wellenvektors k dazu benutzt werden um die Ausbreitungsgeschwindigkeit $c = \frac{\omega}{\Re(k)}$ der Welle zu berechnen.

5.1.2. Hochfrequenter Grenzfall

Für sehr große $\omega > 10^{12}$ kann der Realteil von Gleichung 5.10 durch die Dispersionsrelation einer rein akustischen Welle $k = \frac{\omega}{c_0}$ genähert werden. Im Gegensatz zu letzterer besitzt k in Gleichung 5.10 aber für alle ω einen nicht verschwindenden Imaginärteil. Das heisst, die beschriebenen viskos gekoppelten Wellen sind stets gedämpft. Zur späteren Veranschaulichung werden zunächst der Real- und Imaginärteil von k in Gleichung 5.10 mit Hilfe der mathematischen Software *Maple* explizit bestimmt.

$$\begin{aligned}\Re(k) &= \frac{\omega}{c_0} \frac{1}{2} \sqrt{\sqrt{4 \left(1 + \frac{1}{2} \frac{\sqrt{2\rho_w \eta_w}}{\rho_0}\right)^2 + \frac{2\rho_w \eta_w}{\omega \rho_0^2}} + 2 + \frac{\sqrt{2\rho_w \eta_w}}{\rho_0}} \\ \Im(k) &= -\frac{\omega}{c_0} \frac{1}{2} \sqrt{\sqrt{4 \left(1 + \frac{1}{2} \frac{\sqrt{2\rho_w \eta_w}}{\rho_0}\right)^2 + \frac{2\rho_w \eta_w}{\omega \rho_0^2}} - 2 - \frac{\sqrt{2\rho_w \eta_w}}{\rho_0}}\end{aligned}\quad (5.11)$$

Abbildung 5.1a) zeigt den Plot der Ausbreitungsgeschwindigkeit $c = \frac{\omega}{\Re(k)}$ und 5.1b) die Dämpfungskonstante $\beta = -\Im(k)$ und zusätzlich die prozentualen Dämpfung (Amplitudenabnahme) pro Wellenlänge $(1 - e^{\Im(k) \frac{2\pi}{\Re(k)}})$. Alle Graphen erstrecken sich über einen weiten Frequenzbereich unter Verwendung der Parameter $c_0 \approx 100 \frac{m}{s}$, $\rho_0 \approx 2 \cdot 10^{-6} \frac{kg}{m^3}$, $\rho_w \approx 1000 \frac{kg}{m^3}$ und $\eta_w \approx 1 \cdot 10^{-3} Pas$. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit in Abbildung 5.1a) nähert sich bei sehr hohen Frequenzen um $\omega \approx 10^{12} \frac{1}{s}$ den Grenzwerten einer rein akustischen Welle an. Hingegen nimmt die Dämpfung nach Abbildung 5.1b) stetig mit der Frequenz zu, ganz im Gegensatz zu einer ungedämpften, rein akustischen Welle. Im gleichen Zug fällt aber die Dämpfung pro Wellenlänge in Abbildung 5.1b) bei sehr hohen Frequenzen um $\omega \approx 10^{12} \frac{1}{s}$ auf fast 10% ab.

Für die elektrische Anregung aus Kapitel 4 im *MHz*-Bereich bedeutet dies Folgendes. Bezieht man die viskose Kopplung mit in die theoretischen Betrachtungen ein, so zeigt Abbildung 5.1a), dass im *MHz*-Bereich noch kein akustisches Verhalten zu erwarten wäre. Außerdem erzeugt die viskose Kopplung eine Dämpfung, die bereits bei Frequenzen von *10MHz* groß genug ist, um die Welle so stark zu dämpfen, dass sie sich nur noch über wenige Wellenlängen ($\approx 100\mu m$) ausbreiten würde und so keine messbare Veränderung des gesamten Oberflächendruckes mehr erzeugen könnte. Dieses Verhalten zeigt sich aber, Kapitel 4 folgend, im Experiment keineswegs.

Viel mehr kommt es zu messbaren Wellenphänomenen, deren zugeordnete Geschwindigkeiten akustisches Verhalten zeigen. Dies impliziert, dass die elektrisch angeregten Wellenphänomene stark von der Subphase entkoppelt sein müssen und nicht mehr den Erwartungen einer viskos gekoppelten Welle entsprechen (vgl. Gleichungen 5.11). Gleichmaßen lässt sich daraus schließen, dass die Dispersionsrelationen in Gleichungen 5.11 bei Frequenzen im *MHz*-Bereich ihre reine Gültigkeit verlieren. Eine Erklärung wäre, dass in diesem Frequenzbereich, die viskosen oder thermischen Grenzschichten bereits sehr dünn unter dem Monolayer liegen. Das Wasser in diesem dünnen Gebiet würde von den Ladungen oder Dipolen des Monolayers beeinflusst und kein rein viskoses Verhalten mehr zeigen [88]. Die Viskosität von Grenzflächenwasser scheint zudem größer zu sein als die von Bulk-Wassers [89], was eine Entkopplung von Monolayer und Subphase unterstützen würde.

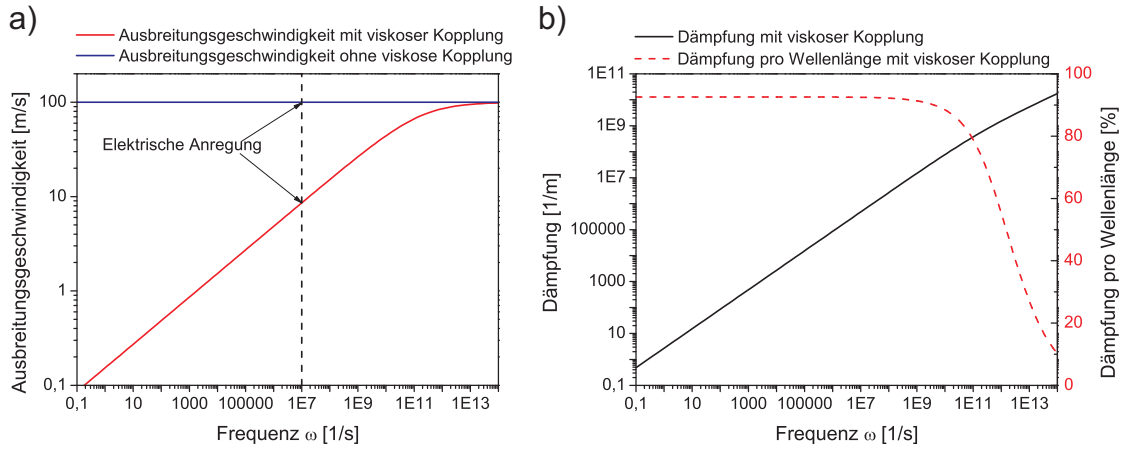


Abbildung 5.1.: a) Ausbreitungsgeschwindigkeiten nach den theoretischen Dispersionsrelationen einer rein akustischen Welle und Wellen mit viskoser Kopplung an die Wassersubphase (vgl. Abschnitt 5.1.1). b) Dämpfungskonstante und prozentuale Dämpfung pro Wellenlänge nach den theoretischen Dispersionsrelationen von Wellen mit viskoser Kopplung an die Wassersubphase (vgl. Abschnitt 5.1.1). Für alle Plots wurden die Parameter $c_0 \approx 100 \frac{m}{s}$, $\rho_0 \approx 2 \cdot 10^{-6} \frac{kg}{m^2}$, $\rho_w \approx 1000 \frac{kg}{m^3}$ und $\eta_w \approx 1 \cdot 10^{-3} Pa \cdot s$ verwendet.

5.1.3. Niederfrequenter Grenzfall

Für dieses Kapitel werden Frequenzen im *Hz*-Bereich (um $\approx 1 Hz$) und damit der niederfrequente Grenzfall maßgebend sein. Da für ihn $\frac{\rho_w \eta_w}{\omega} \approx 1 \frac{kg}{m^2}$ und $\rho_0 \approx 2 \cdot 10^{-6} \frac{kg}{m^2}$ sind, kann die „1“ in Gleichung 5.10 vernachlässigt werden und es ergibt sich in sehr guter Näherung folgender Term.

$$k^2 = -\frac{1}{c_0^2} \frac{1}{\rho_0} e^{i\frac{3\pi}{4}} \sqrt{\rho_w \eta_w} \omega^3 = e^{-i\frac{\pi}{4}} \kappa_S \sqrt{\rho_w \eta_w} \omega^3 \quad (5.12)$$

Hier ist κ_S wieder die adiabatische Kompressibilität des betrachteten Monolayers. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit c und die Dämpfung β ergeben sich demnach zu:

$$\begin{aligned} c &= \frac{\omega}{\Re(k)} = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}} \\ \beta &= -\Im(k) = \sin\left(\frac{\pi}{8}\right) \sqrt{\kappa_S \sqrt{\rho_w \eta_w} \omega^3} \end{aligned} \quad (5.13)$$

Dies entspricht dem Ergebnis, dass in [26] oder [25, 24, 87], zu finden ist und dort auf Grund der Betrachtung von longitudinalen Kapillarwellen an Oberflächen mit Monolayern entstanden ist. Dort wurde, im Gegensatz zu der Beschreibung hier, von Anfang an die Masse der Lipide vernachlässigt. Wird demnach der Trägheitsterm $\frac{\partial^2 v_{mx}}{\partial t^2}$ in Gleichung 5.4 fallen gelassen, ergibt sich eine Gleichung, die in [26] als Bedingung an der Wasseroberfläche eingeführt wurde. Im Gegensatz zum Ausgangspunkt des Wassers, der in [26] oder [25, 24, 87] gewählt wurde, wird in der vorliegenden Betrachtung vom Monolayer selbst ausgegangen.

Die in Gleichung 5.13 definierte Dämpfung β wird in dieser Arbeit nur eine untergeordnete Rolle spielen. Dies hat zum einen den Grund, dass vor allem die Propagation selbst, bzw. die Anregung von propagierenden Signalen auf Monolayern betrachtet werden soll. Zum anderen zeigt eine realistische Abschätzung ($\kappa_S \approx 10 \frac{m}{N}$, $\rho_w \approx 1000 \frac{kg}{m^3}$, $\eta_w \approx 1 \cdot 10^{-3} Pas$ und wie in Abschnitt 5.3.1 gezeigt wird $\omega \approx 1 \frac{1}{s}$), dass $\beta \approx 1,2 \frac{1}{m}$. Für eine Propagation über $20cm$ bedeutet das, dass sich die Amplitude einer angeregten Welle dieser Frequenzen nur auf $e^{-\beta \cdot 0,2m} \approx 80\%$ der Ausgangsamplitude abgeschwächt hätte. Da die Dimensionen des verwendeten Filmwaagentroges $20cm \times 30cm$ sind, kann die Dämpfung dieser Wellen also nur sehr bedingt mit der benutzten Filmwaage analysiert werden. Dementsprechend soll von einer Diskussion der Dämpfung im Folgenden abgesehen werden.

5.2. Versuchsaufbau zur natürlichen Anregung

Die in 5.1 beschriebenen Wellen, wurden sowohl theoretisch, als auch experimentell bereits mehrfach betrachtet. In [90, 91] wird beispielsweise ein dünner, oszillierender Platindraht dazu verwendet, harmonisch longitudinale Wellen in verschiedenen Monolayern zu erzeugen. Auf gleiche Art und Weise wurden langsam oszillierende Teflonbarrieren einer Filmwaage verwendet [26, 92]. Meistens beruhte die experimentelle Anregung aber auf der Erzeugung von transversalen Kapillarwellen auf der Oberfläche des Wassers [93, 94, 95, 96]. Diese Kapillarwellen erzeugten in den aufgebrachten Monolayern longitudinale Wellen, die dann zur Analyse der elastischen Eigenschaften des Monolayers verwendet wurden. Auf außergewöhnliche Art und

Weise konnte auch die lichtgetriggerte Konformationsänderung von Polymeren im Monolayer dazu verwendet werden, Oberflächendruckpulse auf letzterem anzuregen und zu beobachten [97]. Die im Folgenden vorgestellte Methode zur Anregung von Monolayerpulsen beruht dagegen auf dem einfachen Aufbringen von Substanzen auf den Monolayer.

5.2.1. Anregungsprinzip

Das verwendete Anregungsprinzip ist einfach und deshalb flexibel. Es beruht auf der Wechselwirkung der Lipide mit verschiedenen Substanzen, wie beispielsweise Lösungsmitteln (zum Beispiel Alkohole), oder Säuren. All diese Substanzen werden zur Anregung einfach in Tropfenform auf den Monolayer gebracht, erzeugen durch die Wechselwirkung mit den Lipiden einen Druckpuls und lösen sich anschließend in der Subphase oder evaporieren in die Luft. Der Vorgang ist in Abbildung 5.5 kurz skizziert und wird im folgenden Abschnitt 5.2.2 detailliert dargestellt.

Kern des Anregungsprinzips ist die Wechselwirkung von Lipid mit aufgebrauchten Substanzen. In dieser Arbeit werden dazu Ethanol, Methanol, Chloroform, Pentan, Essigsäure und Salzsäure verwendet. Die möglichen Wechselwirkungen sollen hier kurz diskutiert werden.

- **Ethanol, Methanol:** Abbildung 5.2 zeigt die chemische Struktur der Alkohole. Sie besitzen hydrophobe Kohlenwasserstoffanteile und eine *OH*-Gruppe. Sie werden sich deshalb in der Nähe der Sauerstoffatomen der Phosphatgruppen der Phospholipide anordnen, da die *OH*-Gruppen zu den Sauerstoffatomen gut Wasserstoffbrückenbindungen aufbauen können [98]. Die Konsequenz einer solchen Anordnung ist eine Vergrößerung der Lipidfläche auf Grund des zusätzlichen Platzbedarfs der Alkohole. MD-Simulationen zeigen, dass Ethanol im Vergleich zu Methanol eine stärkere Tendenz zu letzterem Verhalten hat [99]. Lipidbilayer zeigen darüber hinaus ein Ausdünnen, das aus einer tieferen Verzahnung (Interdigitation) der Kohlenwasserstoffketten ineinander resultiert [98]. Gleichzeitig haben die Alkohole eine sehr hohe Löslichkeit und Affinität zu Wasser, so dass für die Ethanol- bzw. Methanolanregung eines Lipid-Monolayers ein relativ kurzer positiver Oberflächendruckpuls zu erwarten ist.

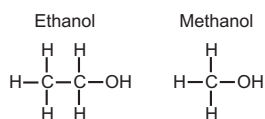


Abbildung 5.2.: Chemische Struktur von Ethanol und Methanol.

- **Chloroform:** Der chemischen Struktur in Abbildung 5.3 folgend ist Chloroform durch die *Cl*-Atome leicht polar und kein rein hydrophobes Molekül. Es ist schlecht in Wasser löslich, sehr leicht flüchtig und ist, vergleichbar mit Ethanol, ein gutes Lösungsmittel für Lipide. In Membranen siedelt es sich im Vergleich zu Ethanol näher zu den Kohlenwasserstoffketten als den Phosphatgruppen der Phospholipide an [100]. Dies bedeutet, dass bei der Anregung mit Chloroform eine Vergrößerung der Lipidfläche erwartet wird, durch die ein positiver Druckpuls im Monolayer entsteht, der im Anschluss langsam abklingt, bis das Chloroform wieder vollständig verdampft ist.

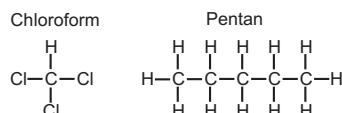


Abbildung 5.3.: Chemische Struktur von Chloroform und Pentan.

- **Pentan:** Abbildung 5.3 zeigt, dass es sich um ein komplett hydrophobes Molekül handelt. Dementsprechend wird es sich in Monolayern im Bereich der Kohlenwasserstoffketten der Lipide ansiedeln. Pentan ist noch schlechter in Wasser löslich und noch flüchtiger als Chloroform. Man erwartet deshalb bei der Anregung mit Pentan ein ähnliches Verhalten wie bei Chloroform.
- **Salzsäure:** Abbildung 5.4 zeigt die einfache Struktur von Salzsäure. Sie ist eine starke Säure und dissoziiert vollständig in Wasser zu H^+ und Cl^- . Ausgehend von den verwendeten Phospholipiden, bedeutet das, dass das O^- -Atom der Phosphatgruppe, je nach Säurekonstante (pK_S -Wert) des betrachteten Lipids, von den H^+ protoniert werden. Folglich würde sich die Kopfgruppe von DPPC beim Kontakt mit Salzsäure positiv laden, die von DPPG dagegen ihre negative Ladung reduzieren. Die Effekte auf den Oberflächendruck oder die Lipidfläche fallen je nach pH, Salztyp und Salzmenge in der Subphase unterschiedlich aus und können nur abgeschätzt werden. Einige Beispiele sollen hier zur Veranschaulichung dieses Sachverhalts dienen. In [101] ist beschrieben, dass sich die Isothermen reiner DPPG-Monolayer bei Hinzugabe von Salzen in die Subphase zu größeren Flächen und höheren Drücken hin verschieben (Expansion), was durch die Abschirmung der negativen Ladungen des DPPG und die daraus resultierende zusätzlichen Stabilisierung der Lipide begründet werden kann. In [102] ist nun eine Isothermen Schar von DPPG-Monolayern auf salziger Subphase bei verschiedenen pH-Werten zu sehen. Dort erzeugt eine zusätzliche Erniedrigung des pH, die einer Reduzierung der abgeschirmten Ladungen der Kopfgruppen bedeutet, eine Verschiebung der DPPG-Isothermen

hin zu niedrigeren Drücken und kleineren Flächen (Kondensation). Die Reduktion der Ladungen der Kopfgruppe, die einer reduzierten Abstoßung entspricht, führt also zur Kondensation der Lipide. Für DPPC-Monolayer würde man dementsprechend eine Expansion der Lipide mit sinkendem pH und somit zunehmender Kopfgruppenladung erwarten. Tatsächlich wird aber beispielsweise in [103] gezeigt, dass für salzige Subphasen eine Erniedrigung des pH durch Essigsäure eine leichte Verkleinerung der Lipidfläche von DPPC zur Folge hat. Auch auf reinen Wassersubphasen ergibt sich eine Kondensation von DPPC-Monolayern [104]. Um dies zu erklären, genügt es nicht die reinen elektrostatischen Wechselwirkungen zu betrachten. In Abschnitt 5.4 wird dieses Verhalten von DPPC deshalb nochmals genauer dargestellt. Einzig den zuvor zitierten Arbeiten folgend würde man bei DPPC-Monolayern negative Pulse bei der Salzsäureanregung erwarten.

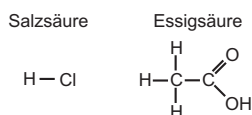


Abbildung 5.4.: Chemische Struktur von Salzsäure und Essigsäure

- **Essigsäure:** Vergleicht man die Struktur von Essigsäure (CH_3COOH) in Abbildung 5.4 mit der von Ethanol in Abbildung 5.2, so fällt auf, dass sie bis auf die Säuregruppe mit dem doppelt gebundenen Sauerstoff, sehr ähnlich sind. Als Säure ist CH_3COOH sehr schwach und besitzt eine Säurekonstante von $pK_S = 4,76$. Das heisst, nach der Definition des pK_S -Wertes ergibt sich die Konzentration der Protonen ($c(\text{H}^+)$) aus der Säurekonzentration ($c(\text{CH}_3\text{COOH})$) zu $c(\text{H}^+) = \sqrt{10^{-pK_S} \cdot c(\text{CH}_3\text{COOH})}$. Wegen des hohen pK_S -Wertes verbleibt in wässriger Lösung der Großteil der Essigsäure in Form von CH_3COOH und nur ein geringer Teil dissoziiert zu Acetat-Ionen (CH_3COO^-) und Protonen (H^+). Im Falle der Anregung bleibt es deshalb abzuwägen, ob der Säurecharakter in Form der H^+ , wie bei Salzsäure, oder die Strukturähnlichkeit zu Ethanol maßgebend sind. So wäre es denkbar dass sich Essigsäure wie Ethanol im Bereich der Kopfgruppe der Phospholipide ansiedelt und so eine Lipidflächenvergrößerung verursacht, die den Effekt der Ladungserzeugung oder Ladungsreduktion durch die H^+ überwiegt. Hier bleibt das experimentelle Ergebnis abzuwarten.

5.2.2. Filmwaagenaufbau und Versuchsdurchführung

Das im vorigen Abschnitt 5.2.1 besprochene Prinzip des Aufbringens, bzw. Auftropfens verschiedener Substanzen auf den Monolayer wird experimentell auf zwei

verschiedene Arten umgesetzt. Abbildung 5.5 zeigt die beiden eingesetzten Verfahren. Zum einen wird der Dipper-Mechanismus der Filmwaage verwendet (Abbildung 5.5a)). An diesen wird über ein Gestänge eine dünne Nadelspitze mit Schlauchzuführung montiert, die durch den Dipper-Mechanismus langsam angehoben und abgesenkt werden kann. Die Schlauchzuführung ist an eine *Hamilton*-Spritze angeschlossen, so dass ein kleiner Tropfen definierten Volumens an der Nadelspitze erzeugt werden kann, der anschließend durch Absenken der Nadel auf den Monolayer aufgebracht wird. Durch dieses Vorgehen wird versucht eine größtmögliche Reproduzierbarkeit des Anregungsvorganges zu erreichen. Als zweite Möglichkeit den Substanztropfen aufzubringen, wird eine per Hand geführte *Eppendorf*-Pipette verwendet (Abbildung 5.5b)). An deren Plastikspitze kann wiederum ein Tropfen definierten Volumens erzeugt werden, der anschließend vorsichtig auf den Monolayer aufgetropft wird. Die einfache Austauschbarkeit der Plastikspitzen der *Eppendorf*-Pipette und deren gute Resistenz, vor allem gegen Säuren, erleichtert die Anregung unter Verwendung ätzender, oder oxidierender Substanzen, die das Metall der Nadelspitze oder die Schlauchzuführung selbst angreifen würden. Wie die folgenden Experimente zeigen, liefern, bei sorgfältiger Durchführung, beide Methoden des Tropfenaufbringens nicht unterscheidbare Ergebnisse.

Um die Oberflächendruckpulse zu detektieren, werden zwei parallel ausgelesene Oberflächendrucksensoren (*NIMA, Typ PS4, Coventry, England*) verwendet. Durch den Abstand der beiden Sensoren ($14,5\text{cm}$) und die Laufzeitmessung der Druckpulse lassen sich deren Ausbreitungsgeschwindigkeiten ermitteln. Um eine möglichst hohe Zeitauflösung zu erhalten, werden die Drucksensoren über eine einfache Schaltung mit Hilfe eines zeitlich hochauflösenden A/D-Wandlers (*National Instruments, Typ NI USB-6251* ($1,25 \frac{\text{MSamples}}{\text{s}}$), *USA*) ausgelesen. Für die Anbindung an den PC wird eine eigens in der Programmiersprache *C/C++* implementierte Software (*JoeFastDAQ*) verwendet, die sowohl die Kalibrierung der Oberflächendrucksensoren, als auch eine entsprechende Speicherung der Daten von bis zu vier Kanälen des A/D-Wandlers zulässt. Für den Messvorgang selbst werden normalerweise zwei Kanäle für die Drucksensoren mit $0,5 \frac{\text{MSamples}}{\text{s}}$ ausgelesen, wobei über 50 Samples gemittelt wird, um das elektronische Rauschen der Drucksensoren zu reduzieren. Damit ergibt sich eine Zeitauflösung von $0,1\text{ms}$ für alle gezeigten Messungen. Die Genauigkeit der Sensoren liegt, je nachdem wie die Filmwaage gegen äußere Schwingungen gedämpft ist, zwischen $\pm 0,005 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$ und $\pm 0,001 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$.

Zusätzlich kann eine unbewegliche Barriere vor den Drucksensoren platziert werden, die nur einen ca. 1cm breiten Spalt offen lässt, wie es in Abbildung 5.5 skizziert ist. Das damit erzeugte Verlängern des Propagationswegs dient zur zusätzlichen Abdämpfung kurzwellenlängiger Kapillar- oder Schwerewellen auf Wasser, die durch das Aufbringen bzw. Auftropfen entstehen können, um nur die longitudinalen Mo-

5.2. Versuchsaufbau zur natürlichen Anregung

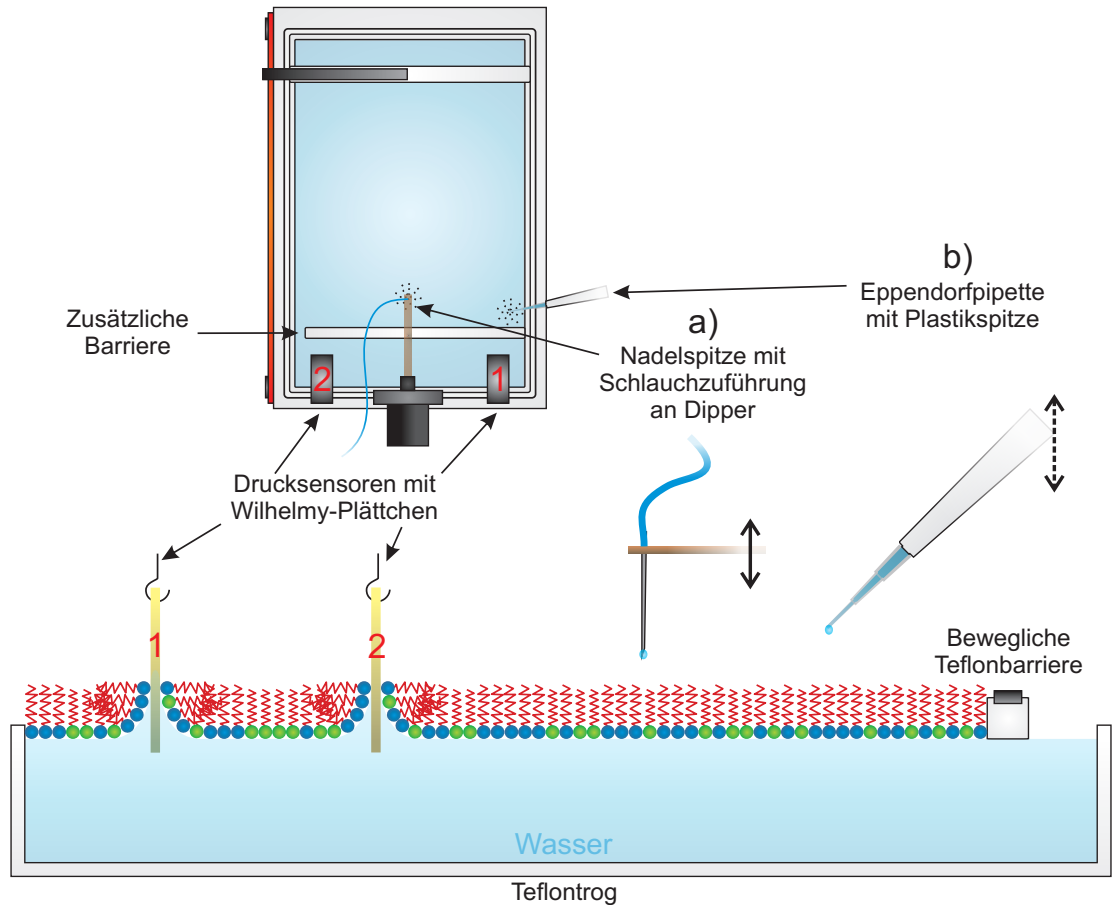


Abbildung 5.5.: Aufbau und Prinzip der Anregung von Druckpulsen auf Monolayern durch das Auftropfen verschiedener Substanzen (beispielsweise Ethanol, Methanol oder Säuren). Diese wechselwirken mit den Lipiden, was letztere auseinanderdrängt oder kondensiert und damit einen Druckpuls erzeugt. Zur Messung der Pulse werden zwei Oberflächendrucksensoren verwendet, die mit sehr hoher Zeitauflösung und Sensitivität ausgelesen werden. Die Tropfen werden auf zwei Arten aufgebracht: a) Über den Dippermechanismus wird der Tropfen an einer Nadelspitze mit Schlauchzuführung langsam auf den Monolayer gebracht; b) Mit Hilfe einer *Eppendorf*-Pipette mit Plastikspitze werden sehr flüchtige oder stark korrodierende (starke Säuren) Substanzen per Hand aufgebracht. Beide Methoden liefern gleiche Ergebnisse.

nolayerwellen zu beobachten. Deshalb wird in den folgenden Experimenten, falls möglich, stets mit Zusatzbarriere gearbeitet.

Zur Einschätzung der reinen Wasserwellen werden zusätzlich Messungen auf reinen Wasseroberflächen vorgenommen, wobei Wassertropfen zur Anregung verwendet werden. Diese Messungen zeigen weder mit noch ohne Zusatzbarriere Signale an den Drucksensoren, so dass alle messbaren Signale der folgenden Experimente nicht durch die reinen Wellenphänomenen des Wassers verursacht werden können

(entsprechende Referenzmessungen in Anhang B.7, Abbildung B.3). Auch das Aufbringen von reinen Wassertropfen auf einen DPPC-Monolayer produziert keinerlei Signale an den Drucksensoren, was in Einklang mit den Experimenten in [105] ist (entsprechende Referenzmessungen in Anhang B.7, Abbildung B.3).

Im Folgenden wird nach dem Aufbringen des Monolayers (vor den eigentlichen Anregungsexperimenten) stets dessen Isotherme aufgezeichnet. Zeigt diese keine Anomalien, wird anschließend mit Hilfe der beweglichen Barriere ein bestimmter Oberflächendruck eingestellt. Die zeitlich hochaufgelöste Aufzeichnung wird gestartet, um anschließend die jeweilige Substanz mit einer der beschriebenen Methoden auf den Monolayer aufzubringen und einen Druckpuls zu erzeugen. Die aufgenommenen Zeit-Oberflächendruck-Kurven werden zur späteren Analyse weiter ausgewertet.

5.3. Anregung mit Lösungsmitteln: Ethanol, Methanol, Pentan und Chloroform

Die folgenden Experimente befassen sich mit der Lösungsmittelanregung von DPPC-Monolayern auf reinen Wassersubphasen bei 24°C . Alle Versuche werden entsprechend Abschnitt 5.2.2 mit Hilfe des Dipper-Mechanismus und unter Verwendung der Zusatzbarriere durchgeführt, wobei Tropfen der reinen Lösungsmittel Ethanol ($2\mu\text{l}$ Tropfen), Methanol ($3\mu\text{l}$ Tropfen), Pentan ($5\mu\text{l}$ Tropfen) und Chloroform ($3\mu\text{l}$ Tropfen) verwendet werden. Die Volumina der Lösungsmitteltropfen sind dabei so gewählt, dass sich stets deutliche Pulse ergeben. Die Durchführung der Lösungsmittelanregung auf reinen Wasseroberflächen zeigt keine deutlichen Signale an den Oberflächendrucksensoren und ordnet die im Folgenden untersuchten Druckpulse eindeutig den Lipid-Monolayern zu (entsprechende Referenzmessungen in Anhang B.7, Abbildung B.2).

5.3.1. Pulsformen

Abbildung 5.6 zeigt typische Pulsformen für die Anregung eines DPPC-Monolayers mit den verschiedenen Lösungsmitteln bei einem Oberflächendruck von ca. $5 - 7 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$. Die positiven Pulse durch Ethanol oder Methanol zeigen starke Ähnlichkeiten und erstrecken sich verglichen mit Pentan oder Chloroform nur über einen kurzen (einige s) Zeitraum. Die positiven Pulse der letzteren dauern hingegen über mehrere 10s bevor sie zum Ausgangsdruck zurück relaxiert sind. Zusätzlich weisen die Formen durch die Alkohole abklingende Schwingungen auf, die auf an den Trogwänden reflektierte Wellen hindeuten.

Die erste Interpretation ist, dass die Alkohole nach ihrer Wechselwirkung mit dem Monolayer, diesen, durch ihre hohe Löslichkeit in Wasser, sehr schnell wieder in die Subphase verlassen. Dadurch entsteht ein definierter Druckpuls, der an den Trogwänden reflektiert wird und die Propagationsstrecke zwischen den Sensoren mehrfach durchlaufen kann (sich mit gleicher Frequenz aber unterschiedlicher Phase überlagernde Wellen erzeugen Muster identischer Frequenz aber unterschiedlicher Amplitude). Chloroform und Pentan hingegen verweilen länger in der Membran bis sie schließlich wieder in die Luft verdampft sind. Durch ihren langen Aufenthalt in den hydrophoben Kohlenwasserstoffketten des Monolayers, erzeugen sie eine langfristige Kompression über mehrere 10s (vergleichbar zu einer Kompression über mehrere 10s mit Hilfe der Filmwaagenbarriere). Dementsprechend unterbindet diese lang andauernde Kompression die Reflexion der Druckfront an den Trogwänden.

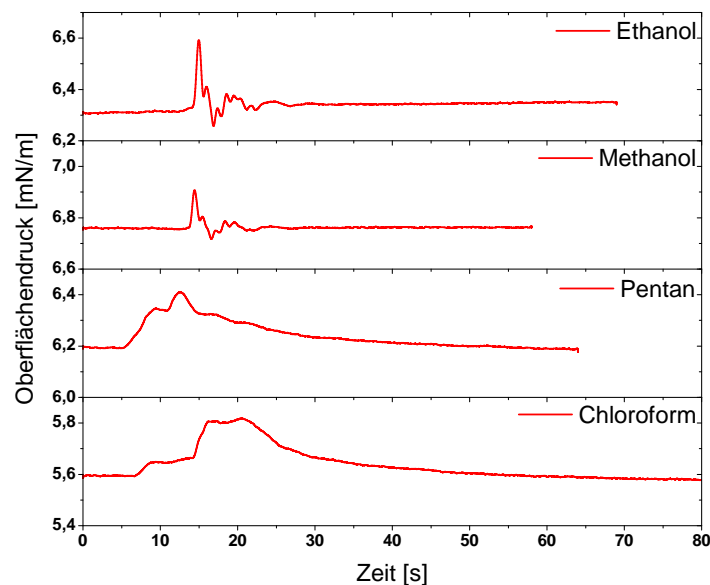


Abbildung 5.6.: Pulsformen der Anregung eines DPPC-Monolayers (24°C) durch die Lösungsmittel Ethanol, Methanol, Pentan und Chloroform. Es sind typische Formen bei einem Druck von $5 - 7 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$ zu sehen. Wie erwartet zeigen sich starke Ähnlichkeiten zwischen Ethanol und Methanol. Beide Alkohole unterscheiden sich deutlich zu den Anregungspulsen von Pentan oder Chloroform.

Zur weiteren Analyse zeigt Abbildung 5.7 die Fourierspektren der Pulse aus Abbildung 5.6. Alle Spektren zeigen Anteile bei etwa $0,2\text{Hz}$. Wie erwartet weisen die der Alkohole die höchsten Frequenzanteile auf, bis in einen Bereich von $> 1\text{Hz}$. Pentan und Chloroform hingegen besitzen bereits zwischen $0,4\text{Hz} - 1\text{Hz}$ fast keine erkennbaren Amplituden mehr.

Bezieht man Abbildung 5.6 mit in die Interpretation ein, so sind die Maxima der Alkoholanregung um $0,8\text{Hz}$ und $1,2\text{Hz}$, den abklingenden, sinusförmigen Schwingungen zuzuordnen (diese besitzen in etwa 5 Maxima in einer Zeitspanne von 5s , was ca. 1Hz entspricht), die die an den Trogwänden reflektierten Pulse widerspiegeln. Dementsprechend sind die Hauptfrequenzanteile der Pulse der Alkoholanregung $0,2\text{Hz}$, $0,8\text{Hz}$ und $1,2\text{Hz}$. Dagegen weisen die Pulse der Pentan- und Chloroformanregung keinerlei Reflexionsmuster auf und in ihren Fourierspektren keine erkennbaren Amplituden bei $0,8\text{Hz}$ und $1,2\text{Hz}$.

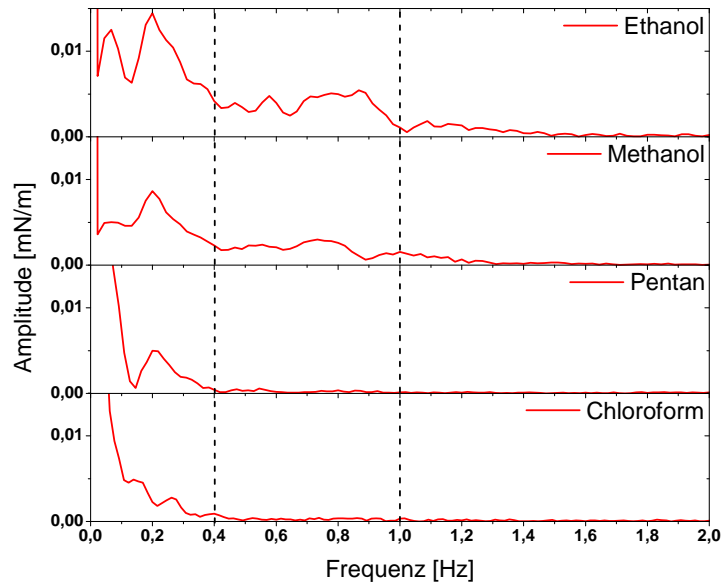


Abbildung 5.7.: Fourierspektren der Anregungen aus Abbildung 5.6. Ethanol und Methanol zeigen die höchsten Frequenzanteile bis $> 1\text{Hz}$, wohingegen Pentan und Chloroform keine Anteile größer als $< 0,4\text{Hz}$ besitzen.

Abschließend zeigt Abbildung 5.8 die, durch Ethanol erzeugten, Anregungspulsformen und deren zugehörigen Fourierspektren für verschiedene Phasen bzw. Oberflächendrücke eines DPPC-Monolayers. Sowohl in der flüssig-expandierten Phase als auch im Phasenübergang ist ein Abklingen der Anregung über einige s zu sehen, wohingegen dieses in der flüssig-kondensierten Phase deutlich verkürzt ist. Die Peakhöhen sind für die flüssig-kondensierte und flüssig-expandierte Phase wesentlich größer als die während des Phasenübergangs. Die auftretenden Amplituden in den Fourierspektren sind im Phasenübergang und während der flüssig-expandierten Phase bis auf ihre Amplituden vergleichbar, wohingegen das Spektrum der flüssig-kondensierten Phase gleichmäßige Amplituden bis hin zu 3Hz besitzt.

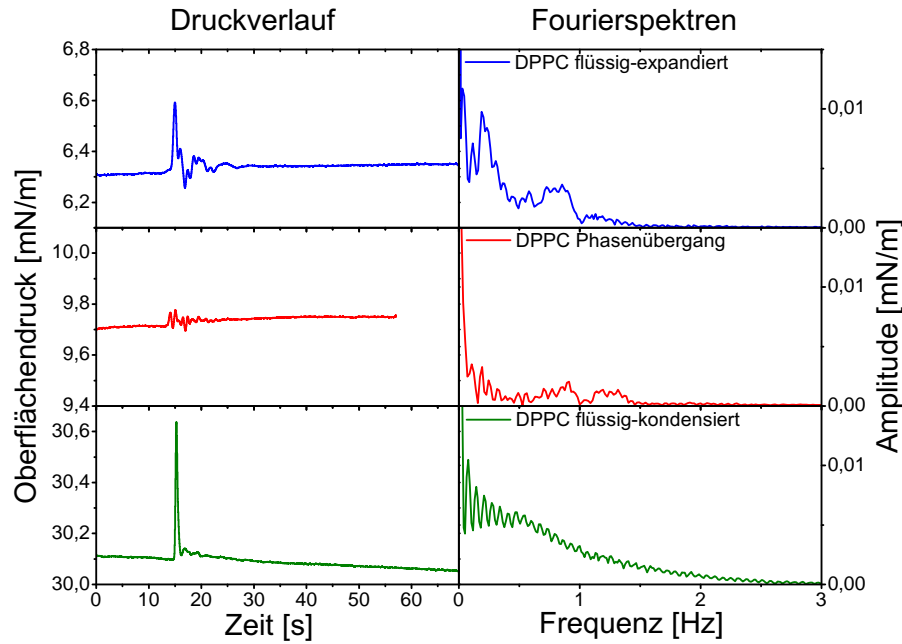


Abbildung 5.8.: Druckverlauf und Fourierspektren der Anregung eines DPPC-Monolayers (24°C) mit Ethanol für verschiedenen Phasen bzw. voreingestellte Oberflächendrücke. Die Pulsformen so wie Frequenzspektren der Anregung unterscheiden sich abhängig von Druck und Phase (flüssig-expandiert, flüssig-kondensiert oder Phasenübergang) des Monolayers.

Abbildung 5.8 zeigt mehrere Aspekte der untersuchten Anregung. Aus dem Abklingverhalten lässt sich ableiten, dass das Relaxationsverhalten des DPPC-Monolayers phasenabhängig ist. Sehr kleine Amplituden im Phasenübergang relaxieren ähnlich lange oder länger wie wesentlich größere Amplituden der flüssig-expandierten oder kondensierten Phase. Das bedeutet, dass, während die Relaxationszeiten im Phasenübergang sehr lang sind, diese in der flüssig-expandierten und flüssig-kondensierten Phase kürzer sind. Für Vesikel-Lösungen wurde das entsprechende Verhalten bereits auf verschiedene Art und Weise experimentell bestätigt [106, 107] und wird im folgenden Abschnitt 5.3.4 für DPPC-Monolayer nochmals ausführlicher dargestellt. Gleichmaßen sollen die phasen- und lösungsmittelabhängigen Peakhöhen im folgenden Abschnitt 5.3.2 genauer diskutiert werden. Die phasenabhängigen Fourierspektren zeigen, dass sich während aller Phasen die Amplituden um 1 Hz ansiedeln. Eine klare Verhalten oder ein deutliches Maximum einer bestimmten Frequenz ist weder lösungsmittel- noch phasenabhängig erkennbar. Zur Anwendung der Theorie aus Abschnitt 5.1 wird deshalb eine Wellenfrequenz $f \approx 1 \text{ Hz}$ für alle Lösungsmittel und Phasen abgeschätzt. Dies begründet sich durch die Betrachtungen oben, die zeigen, dass 1 Hz die Frequenz der Pulse und deren Reflexionen sehr gut widerspiegelt. Außerdem zeigt die Relation der Ausbreitungsgeschwindigkeiten 5.13 aus Abschnitt 5.1, in die die Frequenz ω nur in gevierter Potenz ($\omega^{\frac{1}{4}}$) eingeht, dass kleine Va-

riationen um 1 Hz fast keinen Einfluss auf das Ergebnis der theoretischen erwarteten Geschwindigkeiten besitzen werden.

5.3.2. Pulshöhen

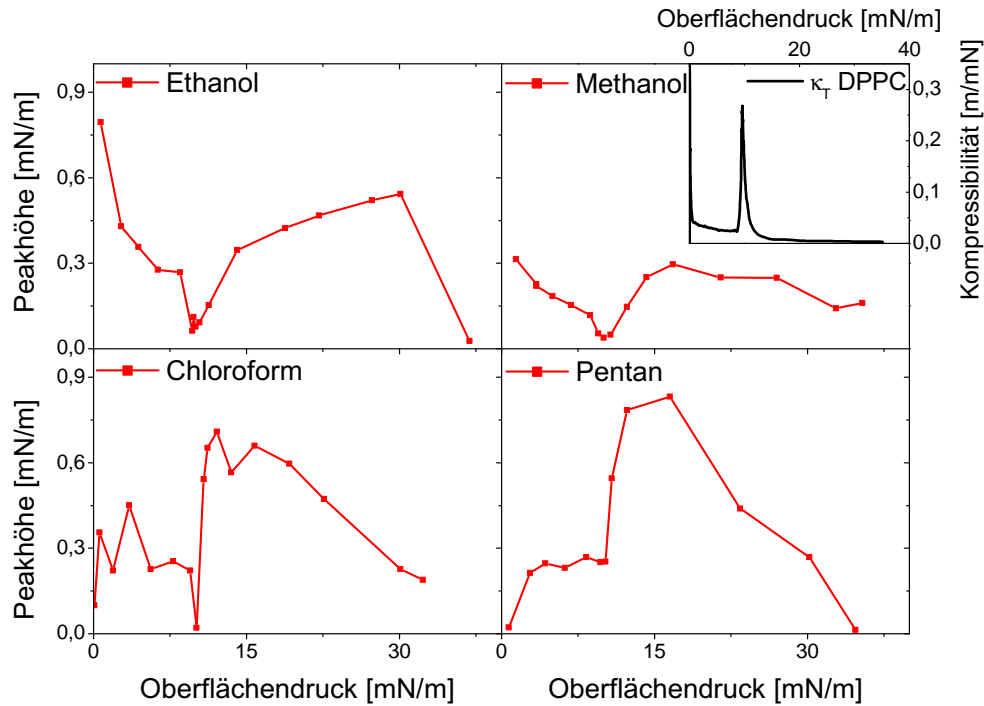


Abbildung 5.9.: Peakhöhen der Anregungspulse der verschiedenen Lösungsmittel (Ethanol, Methanol, Chloroform und Pentan) bei verschiedenen, voreingestellten Oberflächendrücken der DPPC-Monolayer (24°C). Der Inset im Graphen für Methanol zeigt exemplarisch die isotherme Kompressibilität κ_T eines entsprechenden DPPC-Monolayers. Es ist eine klare Abhängigkeit der Peakhöhen vom Oberflächendruck bzw. der Kompressibilität erkennbar.

Um sowohl Phasen- als auch Lösungsmittelabhängigkeit der Peakhöhen zu analysieren, sind letztere über ein gesamtes Oberflächendruckspektrum für alle vier Substanzen in Abbildung 5.9 zu sehen. Die generellen Peakhöhen sind, auf Grund der unterschiedlichen Tropfenvolumina, nur schlecht vergleichbar, wobei Ethanol (2 μ l Tropfen), trotz des geringeren verwendeten Volumens, dennoch höhere Pulse erzeugt als Methanol (3 μ l Tropfen). Alle Kurvenverläufe zeigen ein mehr oder weniger stark ausgeprägtes Minimum während des Phasenübergangs, das an der Stelle des Maximums der isothermen Kompressibilität κ_T des DPPC-Monolayers auftritt (die entsprechende κ_T -Kurve ist im Inset des Methanol-Graphen von Abbildung 5.9 dargestellt). Die Peakhöhen aller Lösungsmittelanregungen nehmen bei hohen Oberflächendrücken $> 25 \frac{mN}{m}$ rapide ab. Unterschiede sind bei sehr niedrigen Drücken $< 3 \frac{mN}{m}$ zu sehen, bei denen die Ethanol- und Methanolkurven von großen Peakhöhen aus

starten, ganz im Gegensatz zu Chloroform und Pentan, die bei niedrigen Peakhöhen beginnen.

Um das gemeinsame Minimum der Peakhöhen zu erklären, kann die Definition der isothermen Kompressibilität nach Gleichung 2.6 benutzt werden. Nimmt man in der Nähe des Phasenübergangs eine konstante, durch die Lösungsmittelanregung verursachte, relative Flächenänderung $\frac{\Delta A}{A}$ an, so ergibt sich für die dadurch erzeugte Druckänderung $\Delta\pi$ näherungsweise folgender Zusammenhang.

$$\Delta\pi = -\frac{1}{\kappa_T} \frac{\Delta A}{A} \quad (5.14)$$

Obwohl für propagierende Wellen die adiabatische Kompressibilität κ_S in obige Gleichung 5.14 eingesetzt werden müsste, so ist Abschnitt 4.3.3 folgend klar, dass während des Maximum von κ_T auch κ_S maximal wäre und eine minimale Druckänderung $\Delta\pi$ auftreten wird. Die Minima der Graphen in Abbildung 5.9 müssen also schon alleine auf Grund der Kompressibilität des DPPC-Monolayers auftreten. Gleichmaßen wird durch Gleichung 5.14 auch impliziert, dass während der reinen flüssig-expandierten oder flüssig-kondensierten Phasen, in denen $\kappa_{T/S}$ nahezu konstant ist, die Änderung der Peakhöhen auf anderen Ursachen beruhen muss.

Bei den hohen betrachteten Drücken $> 25 \frac{mN}{m}$ lässt sich folgern, dass die stark abnehmenden Peakhöhen eine rapide Abnahme der Löslichkeit aller Lösungsmittel im DPPC-Monolayer bedeutet. Dies lässt sich so interpretieren, dass bei sehr hohen Drücken der Platz der den Lösungsmitteln zur Verfügung gestellt wird immer mehr verkleinert wird bis die Lösungsmittelmoleküle förmlich aus dem Monolayer herausgedrängt werden oder sich dort gar nicht mehr lösen und wechselwirken können.

Für die niedrigen Drücke der flüssig-expandierten Phase bedeutet der Unterschied der Peakhöhenverläufe der Alkohole im Vergleich zu Chloroform oder Pentan, dass in diesem Bereich die spezifischen Wechselwirkungen der Lösungsmittel mit dem DPPC-Monolayer unterschiedlich sind. Sowohl Chloroform als auch Pentan siedeln sich Abschnitt 5.2.1 folgend bevorzugt in der Nähe der Kohlenwasserstoffketten der Lipide an. Letztere sind aber bei sehr niedrigen Drücken des Monolayers ungeordnet und liegen größtenteils noch auf der Wasseroberfläche. Löst sich also Chloroform oder Pentan in diesem Zustand im Monolayer, ist es sehr wahrscheinlich, dass die Kohlenwasserstoffketten dem nun zusätzlich belegten Platz schlicht durch Erhöhung ihrer eigenen Ordnung und durch Aufrichten aus dem Wasser ausweichen. Die Alkohole hingegen begeben sich nach [98, 99] in direkte Nähe der Phosphatgruppen der Lipidköpfe und können dort Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden und immer noch mit dem Lipid-Monolayer wechselwirken. Schlußendlich könnten so die Peak-

höhenunterschiede zwischen den Alkoholen und Chloroform bzw. Pentan bei sehr niedrigen Drücken in der flüssig-expandierten Phase erklärt werden.

5.3.3. Ausbreitungsgeschwindigkeiten

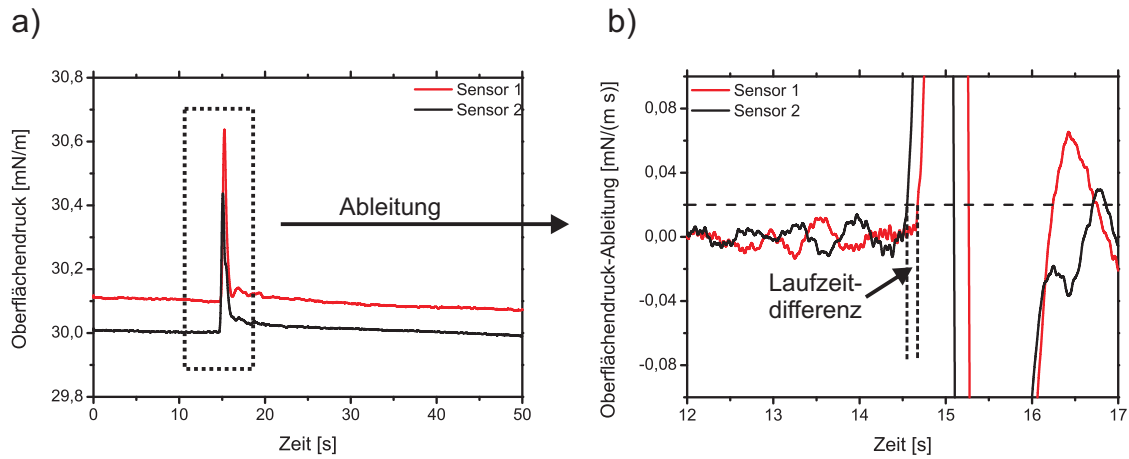


Abbildung 5.10.: Vorgehen zur Ermittlung der Laufzeitdifferenz der sich ausbreitenden Pulse. a) Oberflächenendruckkurven von Pulsen der Ethanolanregung eines DPPC-Monolayers (24°C). Die kleinen Differenzen im Ausgangsdruck der Kurven entstehen durch die leicht unterschiedlichen Kalibrierungskurven der Drucksensoren, die durch konstante Kalibrierungskonstanten genähert werden. b) In der Ableitung der Oberflächenendruck-Zeit-Kurven werden die beiden Schnittpunkte mit einer horizontalen Geraden bei $0,02 \frac{mN}{ms}$ dazu benutzt die Laufzeitdifferenz Δt zu ermitteln.

Da die Pulspropagation von zwei Oberflächenendrucksensoren im Abstand von $\Delta s \approx 14,5cm$ aufgezeichnet wird, ist durch die Ermittlung der Laufzeitdifferenz, die Bestimmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Pulse möglich. Abbildung 5.10 zeigt das gewählte Vorgehen dazu. Zunächst wird die Ableitung des für die Pulse relevanten Abschnittes der Oberflächenendruck-Zeit-Kurven berechnet (Abbildung 5.10a)) und anschließend an Hand der Schnittpunkte der Ableitungskurven mit einer horizontalen Geraden bei $0,02 \frac{mN}{ms}$ die Laufzeitdifferenz Δt ermittelt (Abbildung 5.10b)). Durch dieses Vorgehen werden die ersten Druckanstiege der Pulse zur Bestimmung von Δt benutzt und Beeinflussungen durch das Zerlaufen der Pulspeaks minimiert.

Auf diese Weise werden über das gesamte Oberflächenendruckspektrum der verwendeten Monolayer die Ausbreitungsgeschwindigkeiten für die Pulse der verschiedenen Lösungsmittel bestimmt. Abbildung 5.11a) zeigt die entsprechenden Graphen für die Anregung eines DPPC-Monolayers mit Ethanol, Methanol, Chloroform und Pentan. Die ermittelten Geschwindigkeiten liegen alle im Bereich von $0,2 \frac{m}{s} - 1,2 \frac{m}{s}$, mit den höchsten Werten für die höchsten Oberflächenendrucke im Bereich der flüssig-kondensierten Phase der DPPC-Monolayer. Alle Kurven besitzen ein Minimum im

Phasenübergangsbereich, in dem κ_T maximal ist (vgl. Inset in Abbildung 5.9), wobei das Minimum der Pentankurve am schwächsten ausgebildet ist.

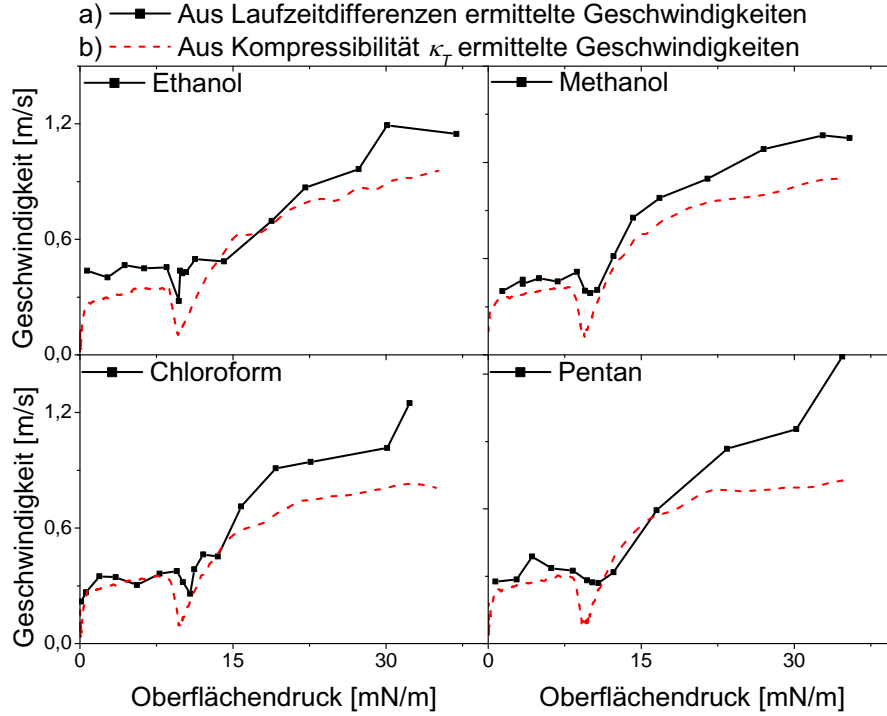


Abbildung 5.11.: a) Aus Laufzeitdifferenzmessungen, wie in Abbildung 5.10 erläutert, bestimmte Ausbreitungsgeschwindigkeiten der Pulse durch Anregungen mit Ethanol, Methanol, Chloroform und Pentan auf einem DPPC-Monolayer (24°C). b) Aus den isothermen Kompressibilitäten der den Versuchen aus a) entsprechenden DPPC-Monolayer (24°C) bestimmte Ausbreitungsgeschwindigkeiten nach $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ (Gleichung 5.13) für $\omega \approx 2 \cdot \pi \cdot 1\text{Hz}$, $\rho_w \approx 1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$ und $\eta_w \approx 1 \cdot 10^{-3} \text{Pas}$.

Die hohen Geschwindigkeiten bei hohen Oberflächendrücken und die niedrigen Geschwindigkeiten während des Phasenübergangs lassen sich mit den Werten der adiabatischen Kompressibilität κ_S des DPPC-Monolayers in diesen Bereichen erklären. Besonders niedrige Werte von κ_S bedeuten einen sehr „steifen“ Monolayer und damit hohe Ausbreitungsgeschwindigkeiten und umgekehrt. Um diesen Zusammenhang genauer zu analysieren soll nun die Wellentheorie aus Abschnitt 5.1.1 verwendet werden. Diese kann auf die vorliegenden Pulse angewendet werden, da sich letztere, wie bereits in Abschnitt 5.3.1 gezeigt, durch Fouriertransformation in eine Summe sinusförmiger Wellen verschiedener Amplituden zerlegen lassen. Diese Summe erfüllt genau so wie eine einzelne Welle die Wellengleichung 5.4 aus Abschnitt 5.1.1. Einzig muss im vorliegenden Fall beachtet werden, dass jede dieser Wellen eine leicht unterschiedliche Dispersionsrelation nach Gleichung 5.13 besitzt. Dies bedeutet Wellen unterschiedlicher Frequenzen werden unterschiedlich schnell

propagieren und gedämpft. Für das kleine Frequenzspektrum der betrachteten Pulse ($\approx 0,2 - 3\text{Hz}$ vgl. Abschnitt 5.3.1) wird dies näherungsweise vernachlässigt, da die Ausbreitungsgeschwindigkeit nur in gevierter Potenz ($\omega^{\frac{1}{4}}$) von der Frequenz ω abhängen und so alle Teilwellen der Fourierzerlegung der Pulse in etwa das gleiche Propagationsverhalten zeigen werden. Im allgemeinen (vor allem für Pulse mit breiten Fourierspektren) ist dies jedoch der Grund dafür, dass ein propagierender Puls „zerfließen“ wird, d.h. die einzelnen Wellenanteile auseinanderlaufen werden.

Um das Frequenzspektrum der Pulse ($\approx 0,2 - 3\text{Hz}$ vgl. Abschnitt 5.3.1) abzuschätzen wird eine durchschnittliche Wellenfrequenz von $\approx 1\text{Hz}$ angenommen (vgl. Abschnitte 5.3.1 und 5.3.2). Weiterhin werden die isothermen Kompressibilitäten κ_T der DPPC-Monolayer dazu verwendet die adiabatische Kompressibilität $\kappa_S \approx \kappa_T$ zu nähern, um so schließlich die Ausbreitungsgeschwindigkeiten nach $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ (vgl. Gleichung 5.13) zu bestimmen. Die Ergebnisse dafür sind in Abbildung 5.11b) gezeigt. Tatsächlich stimmen die unabhängig voneinander ermittelten Kurven 5.11a) und 5.11b) gut überein. Im Detail liegen die Geschwindigkeiten in 5.11a) generell höher als die in 5.11b), was sich bei allen Lösungsmittelanregungen vor allem während des Phasenübergangs und den hohen Drücken ($> 25 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$) der flüssig-kondensierten Phase der DPPC-Monolayer zeigt. Dies lässt sich im wesentlichen auf die Näherung $\kappa_T \approx \kappa_S$ zurückführen, da generell, aber vor allem während des Phasenübergangs, $\kappa_T > \kappa_S$ gilt (vgl. Abschnitt 4.3.3). Ein weiterer Grund bei der vorliegenden Anregung könnte auch die Abschätzung der durchschnittlichen Pulsfrequenz $f \approx 1\text{Hz}$ sein. Für alle Lösungsmittelanregungen zeigen sich aber nahezu die gleichen Abweichungen zwischen den Kurven in Abbildung 5.11a) und b), obwohl die entsprechenden Fourierspektren je nach Lösungsmittel stark unterschiedlich sind (vgl. Abschnitt 5.3.1), so dass die Näherung $f \approx 1\text{Hz}$ nicht ausschlaggebend zu sein scheint.

Unter den Lösungsmittelanregungen, fällt vor allem Pentan auf, dessen Geschwindigkeitskurve das geringste Minimum während des Phasenübergangsbereiches aufweist. Dies deutet auf zusätzliche Wechselwirkungen des Pentans mit den DPPC-Monolayer in diesem Bereich hin, wodurch sich Pentan als ungeeignet für die Anregung von Lipid-Monolayern darstellt. Außerdem spricht, wie bei Chloroform, das lange Verweilen (10s) im Lipidmonolayer gegen die Verwendung bei der Anregung (vgl. Abschnitt 5.3.1). Damit bleiben die Alkohole als geeignete Kandidaten, von denen sich Ethanol durch seine ausgeprägtere Wechselwirkung mit den Lipiden (vgl. Abschnitt 5.2.1) und seinen höheren Anregungspulse (vgl. Abschnitt 5.3.2) gegenüber Methanol auszeichnet. Dementsprechend werden die folgenden spezifischen Analysen mit Hilfe der Ethanolanregung durchgeführt.

5.3.4. Relaxationszeiten

In Abschnitt 5.3.1 wurde bereits angedeutet, dass die Relaxationszeiten der Anregungspulse vom Phasenzustand des Monolayers abhängen. Ein ähnliches Verhalten wurde, wie bereits erwähnt, schon für die Relaxation von Lipid-Vesikeln in Lösungen beobachtet [107, 106]. Eine Erklärung für diese Abhängigkeit ist, dass die Relaxationszeiten durch die Zeitskala der Fluktuationen des betrachteten Systems begrenzt werden. Da die Fluktuationen am längsten und deutlichsten während des Phasenübergangs sind, sind auch dort die Relaxationszeiten am längsten [106]. Auf anderem Wege können nach Onsager auch die Relaxationszeiten über die thermodynamischen Flüsse und einen Transportkoeffizienten L direkt mit thermodynamischen Größen ihren sogenannten Affinitäten (hier beispielsweise $\frac{\partial S}{\partial A}$, wobei S die Entropie und A die Fläche des Monolayers ist) verknüpft werden. In Anhang A.10 wird dementsprechend gezeigt, dass für die Relaxation von Oberflächendruck- oder Flächenänderungen in ihre Gleichgewichtslagen eine exponentielle Relation der Form $e^{-\frac{t}{\tau}}$ maßgebend ist. Für die Relaxationszeit τ wird dabei folgender näherungsweiser Zusammenhang zur isothermen Kompressibilität κ_T hergeleitet, wobei T die Temperatur des Monolayers bezeichnet.

$$\tau = \frac{\kappa_T A T}{L} \quad (5.15)$$

Je nach Prozess gilt gleiches auch für die adiabatische Kompressibilität κ_S . Da die Relaxation der Anregungen über einen vergleichsweise langen Zeitraum (1s – 10s) stattfindet, während dem das Wärmebad der Filmwaage isotherme Bedingungen herstellt, wird im folgenden zunächst mit κ_T gearbeitet. Nach Gleichung 5.15 entstehen bei maximalem κ_T auch maximale τ , so dass das Verhalten der vorliegenden Anregungsrelaxation, das in Abschnitt 5.3.1 angedeutet wurde, erklärt würde.

Die Relaxationszeit τ eines Ethanolanregungspulses wird aus einem exponentiellen Fit des Verlaufs der Amplitudenmaxima an eine Funktion $e^{-\frac{t}{\tau}}$ bestimmt, was in Abbildung 5.12a) an einem Beispiel verdeutlicht wird. Diese Fits werden für ein komplettes Oberflächendruckspektrum eines DPPC-Monolayers durchgeführt, so dass τ phasen- bzw. oberflächendruckabhängig bestimmt werden kann. Zur Überprüfung von Gleichung 5.15 werden die τ in einem Graphen zusammen mit κ_T aufgetragen und verglichen, so wie es in Abbildung 5.12b) dargestellt ist. Schließlich erlaubt Gleichung 5.15 noch die Berechnung des Transportkoeffizienten L , der im Inset von Abbildung 5.12b) zu sehen ist. Es wird deutlich, dass τ tatsächlich näherungsweise dem Verlauf von κ_T und damit dem Phasenzustand des DPPC-Monolayers folgt.

Im Detail zeigt Abbildung 5.12b), dass τ kein so deutliches Maximum wie κ_T während des Phasenübergangs besitzt. Dies deutet entgegen den zuvor gestellten Annahmen an, dass die beobachtete Relaxation nicht isotherm sondern adiabatisch

stattfindet, was die Verwendung von κ_S impliziert. Letzteres ist gerade während des Phasenübergangs kleiner als κ_S und könnte so die beobachteten Differenzen zu κ_T erklären. Betrachtet man den Transportkoeffizienten L im Inset von Abbildung 5.12b), so lässt sich erkennen, dass L während der reinen flüssig-expandierten oder flüssig-kondensierten Phase nahezu konstant ist. Das Maximum während des Phasenübergangs für L würde vermutlich unter Verwendung von κ_S an Stelle von κ_T geringer ausfallen, bzw. komplett verschwinden. Damit gibt es im wesentlichen zwei Werte für L , die sich auf die flüssig-expandierte Phase (L_f) und die flüssig-kondensierte Phase (L_g) aufteilen. Es kann darauf geschlossen werden, dass die thermodynamischen Flüsse während der einzelnen Phasen tatsächlich durch direkte Proportionalitätskonstanten L_f und L_g mit den thermodynamischen Affinitäten verknüpft sind. Dies wiederum entspricht und bestätigt genau die Annahme, die von Onsager aufgestellt und in Anhang A.10 benutzt wurde. Gleichzeitig folgt, dass der Transportkoeffizient L keine allgemeingültige Konstante ist, sondern systemabhängig seinen Wert ändert.

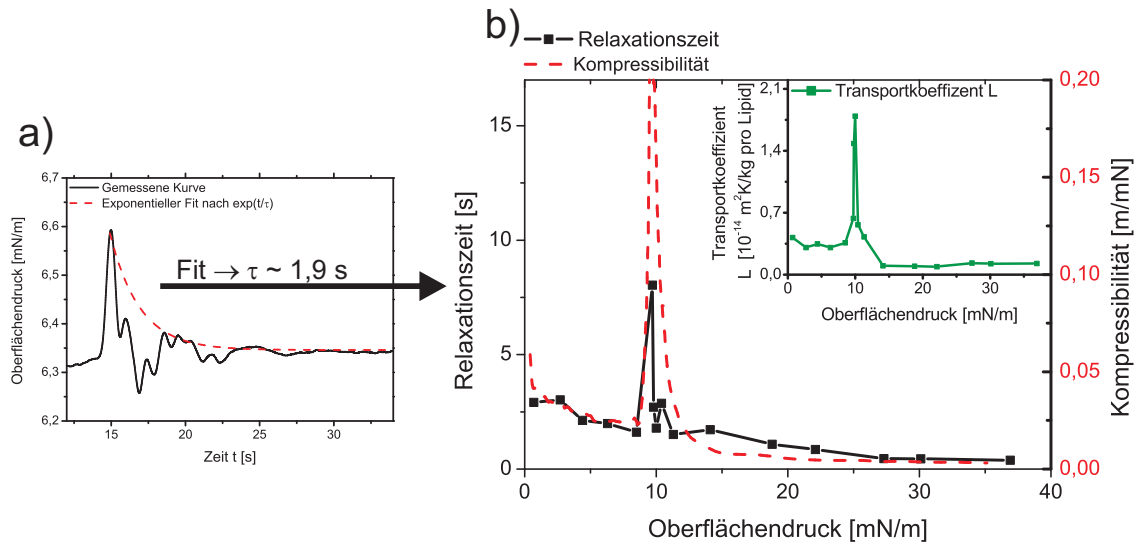


Abbildung 5.12.: a) An die Maxima des Abklingens der Ethanolanregungspulse wird ein exponentieller Verlauf nach der Funktion $e^{-t/\tau}$ angefitet und daraus τ dieses Relaxationsvorganges bestimmt. b) Wird dieser Vorgang für ein gesamtes Druckspektrum eines DPPC-Monolayers (24°C) durchgeführt, kann die Relaxationszeit τ abhängig von der Phase des Monolayers aufgetragen werden. Nach Gleichung 5.15 verhält sich diese wie die isotherme Kompressibilität κ_T , die mit in den Graphen eingetragen ist. Aus Gleichung 5.15 lässt sich außerdem der Transportkoeffizient L berechnen, der im Inset des Graphen gezeigt ist.

5.3.5. Rückschlüsse auf die adiabatische Kompressibilität

Abschließend soll noch gezeigt werden, wie die Messung der Ausbreitungsgeschwindigkeiten dazu dienen kann, die adiabatische Kompressibilität κ_S zu bestimmen.

Dazu wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit c aus der Dispersionsrelation 5.13 nach κ_S aufgelöst.

$$c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}} \Rightarrow \kappa_S = \frac{1}{\cos^2(\frac{\pi}{8})} \frac{1}{c^2} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}} \quad (5.16)$$

κ_S in Gleichung 5.16 hat einen realen Wert und kann aus den Ausbreitungsgeschwindigkeiten c bestimmt werden. Im Allgemeinen können die zwei Relationen für Geschwindigkeit und Dämpfung aus Gleichung 5.13 aber nur für ein komplexes κ_S (mit unbekanntem Real- und Imaginärteil) komplett erfüllt werden. Das heisst κ_S ist im allgemeinen nicht rein real, sondern kann einen imaginären Anteil besitzen. κ_S lässt sich dann in der Form $|\kappa_S|e^{i\Phi}$ darstellen, wobei Φ der sogenannte Verlustwinkel ist. Der imaginäre Anteil von κ_S beschreibt eine Dilatations-Viskosität, die ein Maß für die Verluste, die beim einfachen Komprimieren und Expandieren auftreten können, ist und die nicht das Gleiche, wie die üblicherweise betrachtete, Scherviskosität bezeichnet. Ähnliche Dispersionsrelationspaare wie in Gleichung 5.13 wurden bereits dazu verwendet die komplexe Kompressibilität, bzw. Elastizität von Oberflächenfilmen zu bestimmen [25, 24, 90, 91]. Im Falle der adiabatischen Propagation auf Lipid-Monolayern ergibt sich meist, dass der Verlustwinkel Φ sehr klein ist [26, 108]. κ_S wird hier deshalb als rein real angenommen.

Abbildung 5.13 zeigt die, nach Gleichung 5.16, bei der Ethanolanregung ($\omega \approx 2\pi \cdot 1 \frac{1}{s}$), ermittelte adiabatische Kompressibilität κ_S und die aus einer Isotherme bestimmte isotherme Kompressibilität κ_T eines DPPC-Monolayers. Die Kurvenverläufe von κ_S und κ_T besitzen beide ein Maximum während des Phasenübergangs, wobei das von κ_S wesentlich kleiner als das von κ_T ist. Generell gilt über das gesamte Druckspektrum hinweg $\kappa_S \leq \kappa_T$, so dass die Feststellungen aus Abschnitt 4.3.3 bestätigt werden.

Das Absinken von κ_S gegenüber κ_T wurde unter anderem für DPPC-Monolayer bereits in [109] angedeutet. Die vorliegenden Messungen bestätigen diese Beobachtungen. Durch Gleichung 5.16 deutet sich zudem an, dass κ_S auch frequenzabhängig sein könnte. Bezieht man die elektrische Anregung aus Kapitel 4 mit ein, die im MHz-Bereich ein ähnliches Verhalten von κ_S wie im Falle der Ethanolanregung im Hz-Bereich impliziert, deutet sich eine vermutlich sehr kleine Frequenzabhängigkeit von κ_S an. Dies rechtfertigt nachträglich die zuvor für die Theorie der elektrischen Anregung (Abschnitt 4.1) und der Lösungsmittelanregung (Abschnitt 5.1) gemachte Annahme, dass κ_S nicht von der Frequenz abhängt.

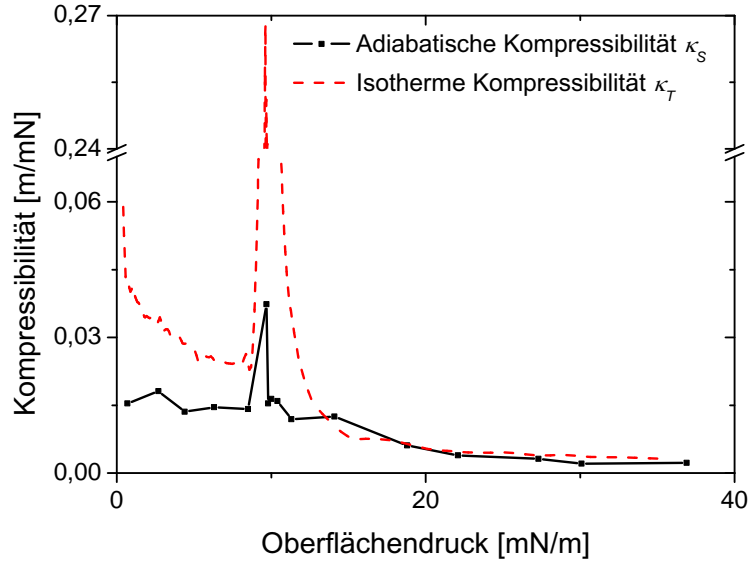


Abbildung 5.13.: Adiabatische und isotherme Kompressibilität κ_S und κ_T eines DPPC-Monolayers (24°C). κ_S wird aus den Ausbreitungsgeschwindigkeiten c der Ethanolanregungspulse (vgl. Abbildung 5.11) nach Gleichung 5.16 ermittelt (unter der Annahme $\omega \approx 2\pi \cdot 1 \frac{1}{s}$). κ_T ergibt sich direkt aus der Isothermen des DPPC-Monolayers (vgl. Abbildung 2.7).

5.4. Anregung mit Salzsäure

Die folgenden Experimente betrachten die Salzsäureanregung von DPPC-Monolayern auf reinen Wassersubphasen bei 24°C. Die gezeigten Versuche werden entsprechend Abschnitt 5.2.2 unter Benutzung einer *Eppendorf*-Pipette durchgeführt (3 μ l Tropfen). Da sich die Anregung mit Salzsäure als schwach herausstellen wird, wird bei den folgenden Versuchen auf die Zusatzbarriere (vgl. Abbildung 5.5) verzichtet. Die entsprechende Referenzmessung mit einem Salzsäuretropfen der höchsten verwendeten Konzentration (37%ig bei pH ≈ -1) auf einer reinen Wasseroberfläche zeigt keine ankommenden Signale bei den Drucksensoren (Referenzmessungen in Anhang B.7, Abbildung B.5). Den Schwierigkeiten bei der Versuchsdurchführung entsprechend, werden die folgenden Abschnitte vor allem zeigen, dass eine Anregung mit Salzsäure nur unter „extremen“ Bedingungen möglich ist.

5.4.1. Isothermen und Pulsformen

In Abschnitt 5.2.1 wurde vermutet, dass Salzsäure DPPC-Monolayer kondensiert und folglich negative Anregungspulse erzeugen sollte. Um diese Vermutung zu untermauern, zeigt Abbildung 5.14 DPPC-Isothermen von Monolayern auf Subphasen derer pH durch Zugabe von Salzsäure auf ≈ 3 und $\approx 1,9$ eingestellt ist.

Sowohl die Isothermen, als auch die entsprechenden Kompressibilitätskurven zeigen, dass bei einem pH von $\approx 1,9$ das Phasenübergangsplateau sinkt und damit tatsächlich eine Kondensation andeutet. Der dazu nötige pH-Wert von $\approx 1,9$ ist in Einklang mit dem pK_s -Wert der Phosphatgruppe von DPPC, der bei ≈ 1 [110] liegt und somit erst bei pHs in diesem Bereich die Protonierung und damit das Laden der DPPC-Kopfgruppe beginnt. Den allgemeinen Erwartungen für geladene Lipide folgend [111], würde man aber eine Expansion des Monolayers auf Grund der zusätzlichen Ladungen erwarten. Für DPPC stellt sich nach [104] die Situation aber anders dar: Die an die Phosphatsäure veresterte Cholingruppe liegt normalerweise parallel zur Wasseroberfläche, da die Entfernung ihrer positiven Ladung zu der negativen Ladung der Phosphatsäuregruppe auf diese Weise minimiert wird. Entlädt sich die Phosphatsäuregruppe, kann sich die Cholingruppe senkrecht aufrichten und sich stärker im Wasser lösen, wodurch es zur Kondensation des DPPC-Monolayers kommt. Die Isothermen für sehr niedrige pH-Werte (bis zu $\approx 0,9$), die in [104] gezeigt sind, setzten den Trend der in Abbildung 5.14 zu erkennen ist, fort und implizieren eine starke Kondensation von DPPC-Monolayern für niedrige pH-Werte.

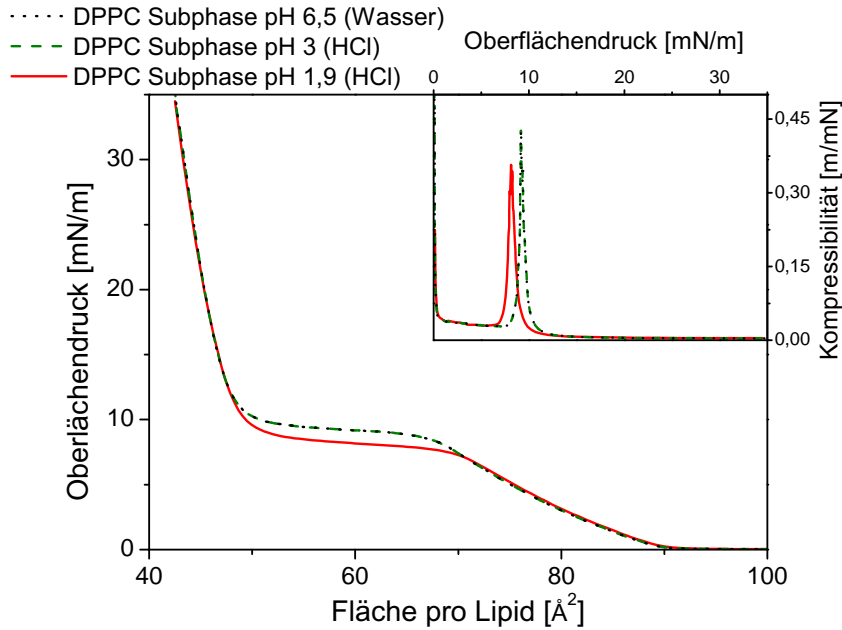


Abbildung 5.14.: DPPC-Monolayer-Isothermen (24°C) auf Subphasen deren pH mit Salzsäure auf ≈ 3 oder $\approx 1,9$ eingestellt wird. Zusätzlich ist die Referenzisotherme auf reinem Wasser miteingetragen. Das Inset zeigt die entsprechend ermittelten Kompressibilitäten. Beim niedrigsten pH-Wert deutet sich eine einsetzende Kondensation an.

Die Anregung mit Salzsäure stellt sich in der Praxis dennoch als schwer heraus. Tatsächlich ergeben sich negative Anregungspulse, wie sie in Abbildung 5.15 zusammen

mit ihren Fourierspektren während verschiedener Phasen des DPPC-Monolayers zu sehen sind.

Die negativen Pulse entstehen erst ab einem sehr niedrigen pH (≈ -1) der aufgegebenen Salzsäure. Diese Abhängigkeit und das Zustandekommen der Pulsform wird im folgenden Abschnitt 5.4.2 genauer diskutiert. Die Pulsformen selbst unterscheiden sich wie zuvor bei der Lösungsmittelanregung abhängig von der Phase, in der der Monolayer ist. Abbildung 5.15 zeigt wiederum, dass während des Phasenübergangs die kleinsten und während der flüssig-kondensierten Phase die größten Pulsamplituden entstehen. Dies lässt sich wie bei den Lösungsmitteln in Abschnitt 5.3.2 mit Gleichung 5.14 erklären, die zeigt, dass bei gleichbleibender Anregungsstärke für hohe Kompressibilitäten niedrigere Pulsamplituden zu erwarten sind. Während der flüssig-kondensierten Phase zeigt sich außerdem, dass der Ausgangsdruck vor der Pulsanregung nicht mehr voll erreicht wird. Dies lässt sich auf die entstehenden Ladungen zurückführen, die die Lipidlöslichkeit in Wasser erhöhen und es so wahrscheinlicher machen, dass DPPC-Lipide bei der Anregung aus dem Monolayer mit in die Wassersubphase gerissen werden.

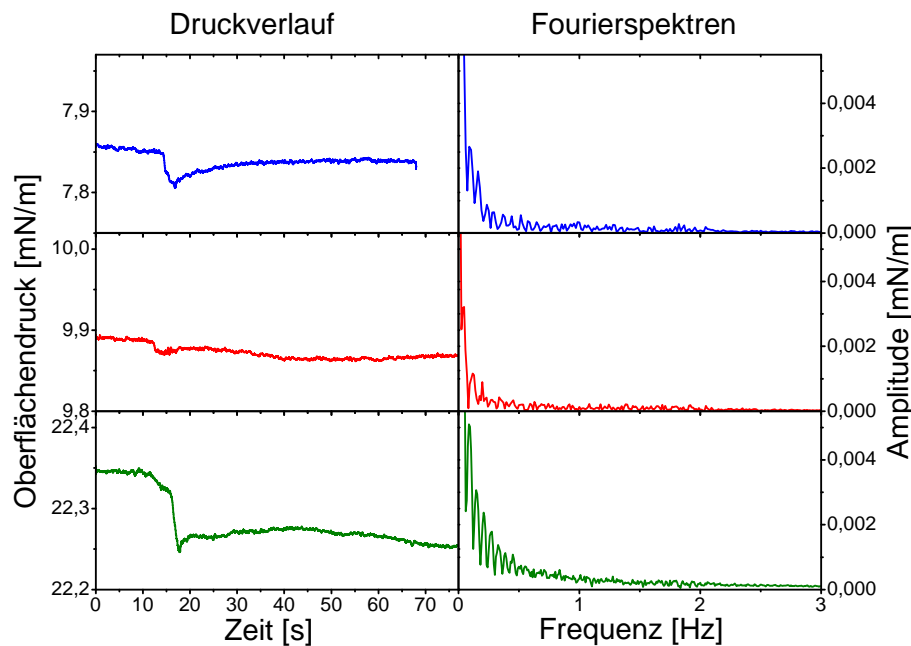


Abbildung 5.15.: Pulsformen und Fourierspektren der Anregung eines DPPC-Monolayers (24°C) mit Salzsäure ($\text{pH} \approx -1$) während verschiedener Phasen des Monolayers. Es zeigen sich negative Anregungspulse, die langsam relaxieren und folglich ein Frequenzspektrum besitzen, das im Vergleich zur Ethanolanregung nur niedrige Frequenzen (um $\approx 0,5\text{Hz}$) und kleine Amplituden besitzt.

Die Amplitudenhöhen in den Fourierspektren von Abbildung 5.15, sind im Vergleich zu denen der Fourierspektren der Ethanolanregung in etwa eine Größenord-

nung kleiner. Anteile bei hohen Frequenzen sind sehr gering und implizieren eine durchschnittliche Pulsfrequenz, die etwas kleiner als $\approx 1\text{Hz}$ ist und im Folgenden mit $\approx 0,5\text{Hz}$ abgeschätzt werden soll. Die Phasenabhängigkeit der Fourierspektren entspricht der der Pulse. Das heisst die Frequenzverteilung bleibt konstant und nur die Amplituden verändern sich der Phase des Monolayers entsprechend, wobei sie minimal im Phasenübergangsbereich sind.

5.4.2. Anregbarkeit und pH-Abhängigkeit

Anregungspulse wie in Abbildung 5.15 entstehen erst ab einem pH von ≈ -1 , was 37%ig konzentrierter Salzsäure entspricht. Zur Veranschaulichung zeigt Abbildung 5.16b) eine Folge von Peakhöhen, die beim Aufbringen von Salzsäuretropfen verschiedener pHs entstehen (DPPC-Monolayer-Oberflächendruck von $\approx 25\frac{\text{mN}}{\text{m}}$). Erst ab einem pH von ≈ -1 lassen sich die DPPC-Monolayer überhaupt anregen. Dies kann auf den Anregungsvorgang und weitere Eigenschaften der Salzsäure zurückgeführt werden. Dazu ist in Abbildung 5.16a) das bloße Annähern eines Salzsäuretropfens (pH ≈ -1) auf 2mm Distanz und das anschließende Wiederentfernen in Form des sich ergebenden Oberflächendruckverlaufs zu sehen. Es lässt sich erkennen, dass der Oberflächendruck des Monolayer durch die reine Nähe des Salzsäuretropfens und seiner Dampfatosphäre bereits kondensiert wird. Die gleich Nähe entsteht aber auch beim Aufbringen der Säuretropfen in „normalen“ Anregungsexperimenten (vgl. Abschnitt 5.4.1), in denen der Tropfen kontinuierlich an den Monolayer angenähert wird, bis er sich direkt von der Pipettenspitze im Wasser löst. Es deutet sich also an, dass bei den „normalen“ Anregungsexperimenten bereits die reine Dampfphase der Salzsäure für die Anregung verantwortlich ist und nicht das eigentliche Lösen des Tropfens in der Wassersubphase. Weitere Experimente, bei denen Salzsäuretropfen (pH ≈ -1) aus einer Höhe von $\approx 3\text{cm}$ auf den Monolayer fallen gelassen werden und keinerlei Anregungspulse auf den DPPC-Monolayern erzeugen, bestätigen diese Erklärung zusätzlich (entsprechende Messungen in Anhang B.7, Abbildung B.5).

Die Intensität des *HCl*-Dampfes über Salzsäure hängt stark von der Konzentration letzterer ab. Der Dampfdruck von 37%iger Salzsäure bei einem pH von ≈ -1 liegt bei 37000Pa [112] und erklärt den stechenden Geruch des intensiven *HCl*-Dampfes über dieser hochkonzentrierten Säure. Hingegen schon bei einer Konzentration von etwa 2%, was einem pH ≈ 0 der Salzsäure entspricht, nimmt der Dampfdruck rapide auf $0,011\text{Pa}$ [112] ab, womit das beschriebene Anregungsverhalten und die pH-Abhängigkeit der Salzsäureanregung erklärt werden können. Wie durch die Messung in Abbildung 5.16a) gezeigt wird, scheint alleine der *HCl*-Dampf (auch Salzsäuregas genannt) der Salzsäure für die Anregung verantwortlich zu sein. In Form des Salzsäuregases, gelangt *HCl* direkt an die Wassergrenzfläche und erniedrigt den pH

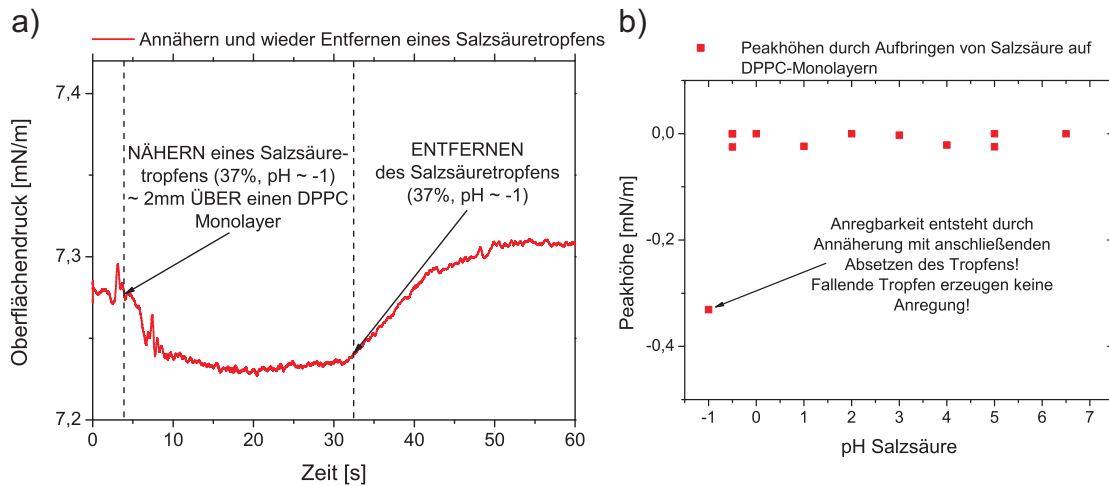


Abbildung 5.16.: a) Oberflächenendruckverlauf beim Annähern eines Salzsäuretropfen ($\text{pH} \approx -1$) auf $\approx 2\text{mm}$ über einen DPPC-Monolayer (24°C) und anschließendes Wiederentfernen. Ein reversibles Absinken des Druckes ist zu erkennen. Es sei hier noch erwähnt, dass zum gleichmäßigen Annähern und Halten des Tropfens über dem Monolayer, die benutzte *Eppendorf*-Pipette an den Dippermechanismus der Filmwaage montiert und nicht per Hand geführt wird. b) pH-Abhängigkeit der Anregung eines DPPC-Monolayers (24°C , Oberflächenendruck $\approx 25 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$) durch das Aufbringen von Salzsäuretropfen.

dort lokal an der Grenzfläche, was die Kondensation der DPPC-Monolayer zur Folge hat. Hingegen weisen die Konzentrationen der Salzsäure für pH-Werte ≥ 0 bereits so niedrige Dampfdrücke auf, dass in der nahen Atmosphäre dieser Säuretropfen vergleichsweise kein Salzsäuregas mehr vorhanden ist und so die DPPC-Monolayer nicht kondensiert werden. Damit ist der scharfe Übergang von Nichtanregbarkeit zu Anregbarkeit mit zusätzlichen Eigenschaften der Salzsäure und deren Dampfphase zu begründen und nicht durch spezifische Eigenschaften der DPPC-Monolayer.

5.4.3. Pulshöhen und Ausbreitungsgeschwindigkeiten

In diesem Abschnitt wird der Vorgang des Tropfenaufbringens (Salzsäure, $\text{pH} \approx -1$) mit seinem kurzen Moment, in dem der *HCl*-Dampf über dem Monolayer steht, dazu benutzt, aus den Ausbreitungszeiten der entstehenden Pulse deren Ausbreitungsgeschwindigkeit zu bestimmen. Dies geschieht auf die selbe Art und Weise wie es in Abschnitt 5.3.3 bereits durchgeführt wurde. Um eine Beeinflussung der Monolayer durch den Subphasen-pH auszuschließen, wird für jedes Experiment ein neuer DPPC-Monolayer auf einer reinen Wassersubphase verwendet.

Abbildung 5.17 zeigt die ermittelten Ausbreitungsgeschwindigkeiten 5.17a) zusammen mit den jeweiligen Pulshöhen 5.17b) in Abhängigkeit vom Oberflächenendruck bzw. der Phase der DPPC-Monolayer. Die direkt gemessenen Ausbreitungsgeschwin-

digkeiten aus den Laufzeitdifferenzen können wieder mit den Vorhersagen nach $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ (Gleichung 5.13) verglichen werden, wobei näherungsweise κ_T eines DPPC-Monolayers anstelle von κ_S und die Frequenz $\omega \approx 2 \cdot \pi \cdot 0,5 \text{ Hz}$ verwendet werden (siehe Abbildung 5.17a)). Sowohl die direkt aus der Pulsausbreitung ermittelten als auch die vorhergesagten Ausbreitungsgeschwindigkeiten zeigen ein Minimum im Phasenübergangsbereich des Monolayers und Geschwindigkeiten im Bereich von $0,2 \frac{\text{m}}{\text{s}} - 1,2 \frac{\text{m}}{\text{s}}$. Vorhersagen für $\omega \approx 2 \cdot \pi \cdot 0,5 \text{ Hz}$ stimmen mit steigendem Oberflächendruck in der flüssig-kondensierten Phase zunehmend schlechter mit der direkten Messung überein. Es deutet sich hier abermals an, dass die adiabatische Kompressibilität κ_S kleiner als κ_T ist. Das im Phasenübergangsbereich für die Alkoholanregung stärker auftretende Absinken von κ_S gegenüber κ_T ($\kappa_S < \kappa_T$) scheint für die Salzsäureanregung vergleichbar schwächer ausgeprägt zu sein (theoretische Erwartungen und direkte Messungen der Ausbreitungsgeschwindigkeit liegen näher zusammen als für Ethanol). Dies könnte sich auf den Anregungsmechanismus selbst zurückführen lassen. Ethanol kann im Phasenübergangsbereich mit den stark fluktuierenden Kohlenwasserstoffketten der Lipide wechselwirken und diese in ihren Freiheitsgraden einschränken, was zu einem Verhärten des Monolayers führen könnte (kleineres κ_S im Phasenübergangsbereich). Dagegen ist die Wirkung der Salzsäure nur auf die Kopfgruppen der Lipide beschränkt, was, im Gegensatz zu Ethanol, keine zusätzlichen Wechselwirkungen mit den Kohlenwasserstoffketten impliziert (größeres κ_S im Phasenübergangsbereich).

Die Kurve der Pulshöhen in Abbildung 5.17b) bestätigt diese Wirkungsweise der Salzsäure nochmals. Die Pulsamplituden besitzen im Phasenübergangsbereich ein Minimum und zeigen keinerlei Abnehmen zu den hohen Drücken ($> 20 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$) der flüssig-kondensierten Phase hin, was in diesen Bereichen den Vorhersagen nach Gleichung 5.14 auf Grund von κ_T entspricht. Das bedeutet, dass die Protonierung der Kopfgruppen der DPPC-Lipide durch Salzsäure nicht direkt von der Dichte der Lipide und derer Kohlenwasserstoffketten beeinflusst wird (im Gegensatz zu Ethanol, das bei hohen Lipiddichten aus dem Monolayer gedrängt wird). Abweichungen vom κ_T folgenden Verhalten (vgl. Gleichung 5.14) ergeben sich in der flüssig-expandierten Phase. Dort treten bei niedrigen Oberflächendrücken ($< 5 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$) nahezu nicht meßbare Pulsamplituden auf. Die Protonierung der Lipidkopfgruppen durch Salzsäure scheint in diesem Bereich keine merkliche Kondensation der Lipide zu erzeugen. Damit deutet sich, während niedriger Oberflächendrücke der flüssig-expandierten Phase, ein verringerter Einfluss der Ladungen der DPPC-Lipide auf die Gesamtheit der Lipidwechselwirkungen an.

Abschließend sei noch erwähnt, dass die Salzsäureanregung wegen der sehr nied-

rigen, nötigen pHs nicht einfach durchzuführen ist. Die Säure wirkt auf sehr viele Materialien stark ätzend und das Salzsäuregas ist stark gesundheitsschädlich für die Atemwege, was nochmals deutlich macht, dass die Salzsäureanregung nur unter vergleichsweise extremen Bedingungen ($\text{pH} \approx -1$) möglich ist.

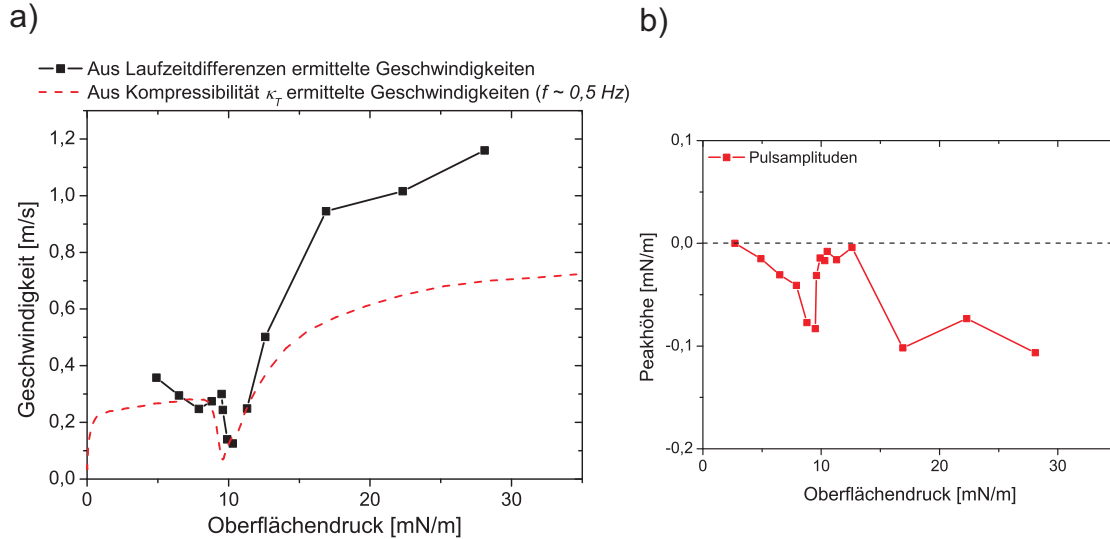


Abbildung 5.17.: a) Aus Laufzeitdifferenzen bestimmte Ausbreitungsgeschwindigkeit von Pulsen der Salzsäureanregung auf DPPC-Monolayern (24°C). Für jeden Messpunkt wird ein neuer DPPC-Monolayer auf einer reinen Wassersubphase verwendet. Zusätzlich sind die aus den isothermen Kompressibilitäten eines DPPC-Monolayers (24°C) bestimmten Ausbreitungsgeschwindigkeiten nach $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ (Gleichung 5.13) für $\omega \approx 2 \cdot \pi \cdot 0,5\text{Hz}$, $\rho_w \approx 1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$ und $\eta_w \approx 1 \cdot 10^{-3} \text{Pas}$ eingezeichnet. b) Entsprechende Pulshöhen der Salzsäureanregungen aus a).

5.5. Anregung mit Essigsäure

Die folgenden Experimente befassen sich mit der Essigsäureanregung von DPPC-Monolayern auf reinen Wassersubphasen bei 24°C . Die gezeigten Versuche werden entsprechend Abschnitt 5.2.2 unter Benutzung einer *Eppendorf*-Pipette durchgeführt ($3\mu\text{l}$ Tropfen). Für alle folgenden Versuche wird, im Gegensatz zur Salzsäureanregung, die Zusatzbarriere (vgl. Abbildung 5.5) wieder verwendet. Wegen der strukturellen Ähnlichkeit der Essigsäure zu Ethanol (vgl. Abschnitt 5.2.1) wird im folgenden oftmals der Vergleich zu dem Alkohol herangezogen. Die Durchführung der Essigsäureanregung auf reinen Wasseroberflächen zeigt, ähnlich wie bei der Ethanolanregung, keine deutlichen Signale an den Oberflächendrucksensoren und ordnet

die im Folgenden untersuchten Druckpulse eindeutig den Lipid-Monolayern zu (entsprechende Referenzmessungen in Anhang B.7, Abbildung B.4)

5.5.1. Isothermen und Pulsformen

Wie in Abschnitt 5.2.1 beschrieben, deutet die strukturelle Ähnlichkeit von Essigsäure und Ethanol darauf hin, dass sie mit ähnlichen Bereichen des Monolayers auf vergleichbare Art wechselwirken werden, wobei Essigsäure einen zusätzlichen Säurecharakter besitzt. Letzterer Charakter ist aber auf Grund des niedrigen pK_S -Wertes ($\approx 4,76$) der Essigsäure nur schwach ausgeprägt, so dass der größte Teil der Essigsäure in seiner protonierten Form (CH_3COOH) und nicht als Azetat (CH_3COO^-) mit Proton (H^+) vorliegt. Zur genaueren Analyse zeigt Abbildung 5.18 zunächst Isothermen und Kompressibilitäten (siehe Insets) von DPPC-Monolayern auf Subphasen bestehend aus reinem Wasser oder verschiedenen Konzentrationen von Essigsäure und Ethanol.

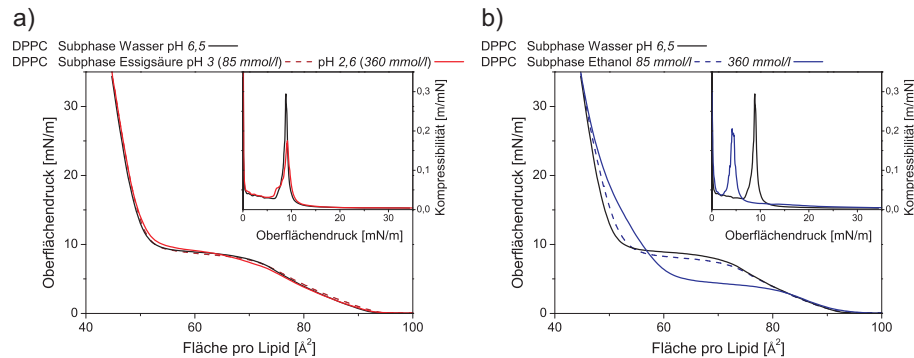


Abbildung 5.18.: Isothermen von DPPC-Monolayern ($24^\circ C$) auf verschiedenen Subphasen von reinem Wasser oder Konzentrationen von a) Essigsäure und b) Ethanol. Es werden Konzentrationen von $85 \frac{mmol}{l}$ oder $360 \frac{mmol}{l}$ verwendet, die im Falle von Essigsäure einem pH von ≈ 3 oder $\approx 2,6$ entsprechen. Das Inset zeigt die zugehörigen isothermen Kompressibilitäten für reines Wasser oder die jeweilig höchsten Konzentrationen von Ethanol oder Essigsäure in den Subphasen. Für Ethanol zeigt sich ein klarer Einfluss auf die Monolayer-Isothermen, der sich ähnlich für essigsäurehaltige Subphasen andeutet.

Ethanol erzeugt bei der höchsten verwendeten Konzentration eine sehr deutliche Verschiebung des Phasenübergangsplateaus des DPPC-Monolayers hin zu niedrigeren Drücken (vgl. Kompressibilitätspeak im Inset von Abbildung 5.18b)) und eine Expansion der flüssig-kondensierten Phase hin zu größeren Flächen. Letztere Expansion lässt sich auf das im Monolayer gelöste und wechselwirkende Ethanol zurückführen, das zusätzlichen Platz zwischen den Lipiden beansprucht. Die starken Wasserstoffbrückenbindungen mit den Phosphatsäuregruppen der Lipide halten das Ethanol dort, bis hin zu hohen Oberflächendrücken. Gleichmaßen ist das Ethanol bereits in der flüssig-expandeden Phase im Monolayer vorhanden (vgl. Abschnitt

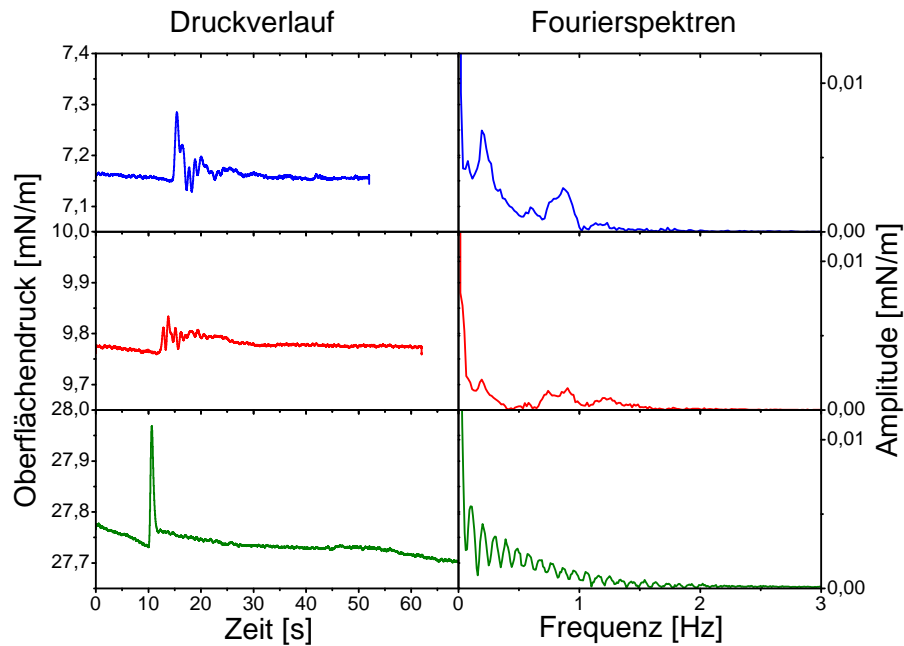


Abbildung 5.19.: Pulsformen und Fourierspektren der Anregung eines DPPC-Monolayers (24°C) mit Essigsäure ($\text{pH} \approx 1,9$) während verschiedener Phasen des Monolayers. Es zeigen sich der Ethanolanregung sehr ähnliche, phasenabhängige Pulsformen, mit entsprechenden Frequenzanteilen in ihren Fourierspektren.

5.3) und erhöht dort durch seinen zusätzlichen Platzanspruch den Druck auf die ungeordneten Kohlenwasserstoffketten des flüssig-expandierten Monolayers, wodurch vermutlich ein Ordnen der Kohlenwasserstoffketten bereits bei vergleichsweise großen Lipidflächen erzwungen wird. Somit könnte die Verschiebung des Phasenübergangsplateaus hin zu größeren Flächen und niedrigeren Drücken erklärt werden, wie sie in Abbildung 5.18b) für die höchste Ethanolkonzentration in der Subphase des DPPC-Monolayers zu sehen ist. Ein ähnliches Verhalten wird konsequenter Weise für Essigsäure erwartet und deutet sich für die höchste Essigsäurekonzentration in Abbildung 5.18a) an. Sowohl ein leichtes Expandieren der flüssig-kondensierten Phase des DPPC-Monolayers, als auch ein leichtes Absinken zu Beginn des Phasenübergangsplateaus lässt sich erkennen. Die Erklärung hierfür entspricht weitestgehend der für Ethanol, da die protonierende Wirkung der Säure bei einem pH von $\approx 2,6$ (vgl. Abschnitt 5.4.1) noch vernachlässigt werden kann. Dieser Einfluss wird selbst für reine Essigsäure (100%) gering sein, da der maximal erreichbare pH auch dann nur $\approx 1,8$ ist. Der geringere Effekt der Essigsäure im Vergleich zu Ethanol, deutet zudem darauf hin, dass ein Ansiedeln der Essigsäuremoleküle näher an den Kopfgruppen der Lipide als bei Ethanolmolekülen stattfindet, was durch das zusätzliche Sauerstoffatom der Essigsäure bedingt sein könnte. Ein Ansiedeln näher den Kopfgruppen wiederum würde implizieren, dass in den Kohlenwasserstoffketten weniger,

zusätzlicher Platz durch Essigsäuremoleküle belegt wird und würde damit den geringeren Einfluss der Essigsäure auf die Isothermen (vgl. Abbildung 5.18a)) erklären.

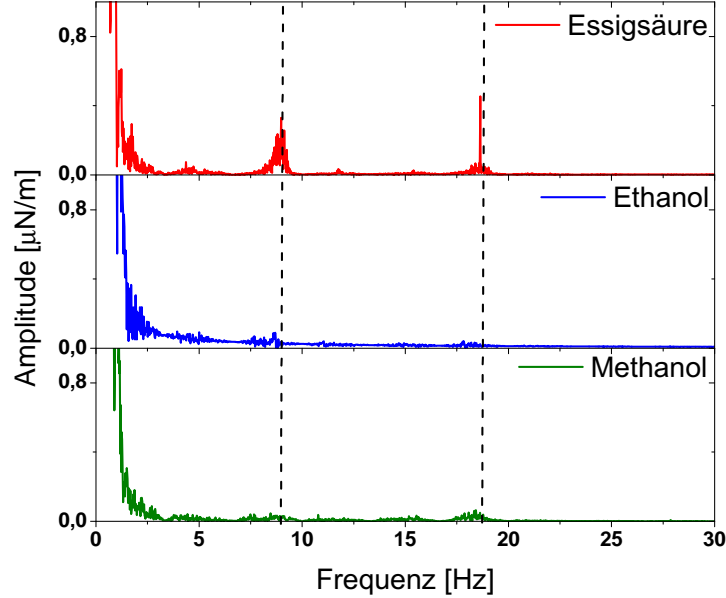


Abbildung 5.20.: Fourierspektren bis 30Hz von Ethanol-, Methanol- und Essigsäureanregungspulsen auf einem DPPC-Monolayer (24°C) bei einem Oberflächendruck von $\approx 7 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$. Die Essigsäureanregung zeichnet sich durch zusätzliche Amplituden bei 9Hz und 18Hz aus.

Für Essigsäure erwartet man dementsprechend ein ähnliches Anregungsverhalten wie für Ethanol. Beispiele für Pulsformen der Essigsäureanregung ($\text{pH} \approx 1,9$) während verschiedener Phasen eines DPPC-Monolayers sind in Abbildung 5.19 zu sehen. Es kommt zu deutlichen, im Gegensatz zur Salzsäureanregung, positiven Anregungspulsen, deren Ähnlichkeiten zur Ethanolanregung klar erkennbar sind. Sowohl die Phasenabhängigkeit und die abklingenden Schwingungen (durch Reflexionen) der Pulse, als auch die sich ergebenden Fourierspektren sind, bis auf ihre Amplituden, für Ethanol und Essigsäure in den gezeigten Graphen nahezu identisch. Wieder zeigen sich für die flüssig-expandierte Phase und den Phasenübergang Frequenzanteile bei 0,8Hz und 1,2Hz, die für die flüssig-kondensierte Phase in eine stetige, periodische Amplitudenverteilung bis 3Hz übergehen. Dadurch wird für die Essigsäureanregung zunächst wieder eine durchschnittliche Pulsfrequenz von $\approx 1\text{Hz}$ impliziert. Die ausgeprägte Ähnlichkeit zur Ethanolanregung impliziert nochmals, dass das Anregungsprinzip der Essigsäure nicht auf dem Einfluss des Säurecharakters beruht, sondern auf den Wechselwirkungen der Essigsäuremoleküle (CH_3COOH) mit den Lipiden.

Trotz aller Ähnlichkeiten, zeichnen sich die Pulsformen der Essigsäureanregung dennoch gegenüber denen der Ethanolanregung (oder Methanolanregung) aus, betrachtet man höher frequente Bereiche der Fourierspektren. Abbildung 5.20 zeigt dazu die Fourierspektren von Anregungspulsen durch Ethanol, Methanol und Essigsäure bei Oberflächendrücken von $\approx 7 \frac{mN}{m}$ über einen Frequenzbereich von $0 - 30 Hz$. Die Essigsäureanregung hat zusätzliche Amplituden bei $\approx 9 Hz$ und $\approx 18 Hz$, die im Vergleich zu den Amplituden bei $\approx 1 Hz$ zwar klein sind, aber die Essigsäure damit gegenüber den gezeigten Ethanol- und Methanolspektren abgrenzt. Diese deutlich höheren Frequenzanteile würden nach Gleichung 5.13 (Abschnitt 5.1.3) eine höhere Ausbreitungsgeschwindigkeit implizieren und deuten auf ein schnelleres Wechselwirkungsverhalten der Essigsäure im Vergleich zu Ethanol hin. Es bleibt zunächst abzuwarten, ob diese Frequenzanteile für die Propagation der Pulse überhaupt dominant werden können (siehe Abschnitt 5.5.3).

5.5.2. Anregbarkeit und pH-Abhängigkeit

Die genaue Betrachtung des Anregungsvorgangs mit Essigsäure deckt zusätzlich Parallelen zur Salzsäureanregung auf. Benutzt man reine Essigsäure (100%ig, $pH \approx 1,8$, stechender Essiggeruch) zur Anregung, zeigt sich beim langsamen Annähern des Essigsäuretropfens beim Anregungsvorgang ein Kurvenverlauf, wie er in Abbildung 5.21a) zu sehen ist. Ähnlich wie bei Salzsäure kommt es bei der Annäherung des Essigsäuretropfens zu einer Kondensation des DPPC-Monolayers, bevor das anschließende Abtropfen auf den Monolayer einen deutlichen Puls erzeugt. Zusätzlich zeigt Abbildung 5.21a) den Annäherungs- und Abtropfvorgang eines weniger konzentrierten Essigsäuretropfens (50%ig, $pH \approx 1,8$, Essiggeruch) für den es zu keinerlei Kondensation des DPPC-Monolayers mehr kommt. Das bedeutet, dass der Säureeinfluss des Essigsäuredampfes in der Lage ist, den DPPC-Monolayer durch Protonierung zu kondensieren, sich aber gleichzeitig nicht genug Essigsäure direkt im DPPC-Monolayer lösen kann, um diesen erkennbar zu expandieren. Erst durch das Aufbringen und Abtropfen der Essigsäure kann sich genug Essigsäure im Monolayer lösen um diesen durch den zusätzlichen Platzbedarf der Essigsäuremoleküle zu expandieren. Beim eigentlichen Aufbringen des Tropfen überwiegen die expandierenden die kondensierenden Effekte der Essigsäure sehr deutlich und erzeugen scharfe positive Druckpulse. Um die Kondensationseffekte, die bei einem pH von $\approx 1,9$ bereits nicht mehr beobachtbar sind (vgl. Abbildung 5.21a)), zu minimieren, wird für alle folgenden Experimente Essigsäure bei einem pH von $\approx 1,9$ zur Anregung verwendet. Letztere beruht dann hauptsächlich auf den Wechselwirkungen der Essigsäuremolekülen mit den Lipidkopfguppen und nicht den kondensierenden Einflüssen des Säurecharakters (Protonierung der Kopfgruppe) der Essigsäure bzw. des Essigsäuredampfes.

Die Abhängigkeiten der Pulshöhe der Essigsäure- bzw. Ethanolanregung vom pH bzw. von der Konzentration sind in Abbildung 5.21b) zu sehen. Die Konzentrationen von Essigsäure und Ethanol sind so gewählt und aufgetragen, dass sie sich entsprechen. Ethanol zeigt bereits früher ein etwas weniger steiles Ansteigen der Pulshöhen mit der Konzentration, als die Essigsäure, die etwas später ein vergleichsweise steiles Ansteigen produziert. Die Fits in Abbildung 5.21b) sind exponentiell und würden dementsprechend zu mehr oder weniger steilen Geraden führen, würde die Konzentration linear und nicht logarithmisch aufgetragen. Dennoch impliziert Abbildung 5.21b) eine pH-Abhängigkeit der Essigsäureanregbarkeit, die sehr scharf in einem Bereich von $\text{pH} \approx 2,3 - 2,1$ beginnt. Dies bedeutet, dass während eines relativ schmalen Essigsäurekonzentrationsbereiches die Menge an gelöster Essigsäure im Lipid-Monolayer stark zunimmt und so eine Anregung möglich macht. Für die Essigsäureanregung entsteht damit ein sehr scharfer Übergang von Nichtanregbarkeit zu Anregbarkeit. Für Ethanol gilt das selbe, nur dass dort der Übergangsbereich breiter ist und bei niedrigeren Konzentrationen beginnt.

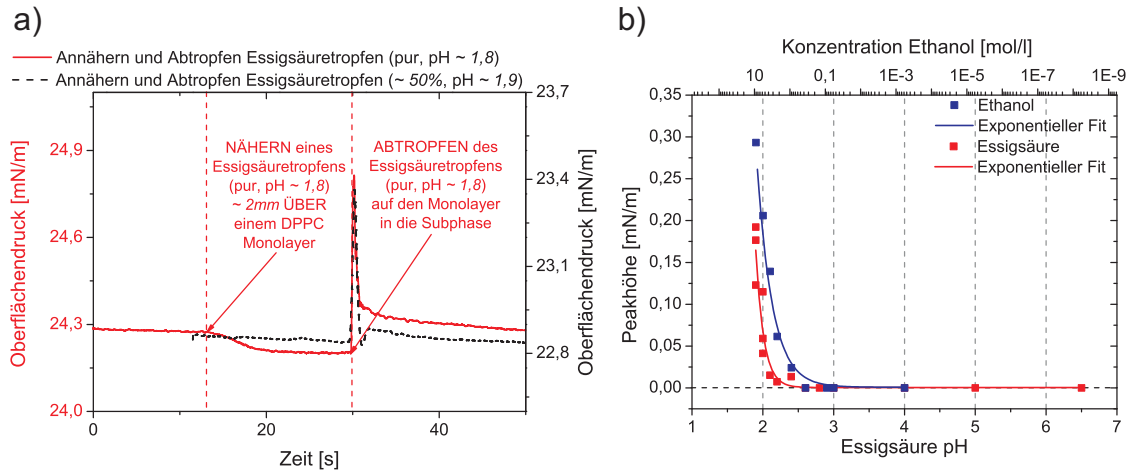


Abbildung 5.21.: a) Annäherung und Anregung eines DPPC-Monolayers (24°C) mit Essigsäure verschiedener Konzentrationen und pHs (100%ig mit $\text{pH} \approx 1,8$, 50%ig mit $\text{pH} \approx 1,9$). Die stark konzentrierte Essigsäureanregung erzeugt ein zusätzliches Kondensieren ähnlich der Salzsäure aus Abschnitt 5.4.2. b) pH- bzw. Konzentrations-Abhängigkeit der Pulshöhen für die Essigsäure- und Ethanolanregung eines DPPC-Monolayers (24°C) bei einem Druck von $\approx 7 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$. Die Konzentrationen des aufgetragenen Ethanols entsprechen den Konzentrationen der aufgetragenen Essigsäure beim jeweiligen pH. Im Vergleich zur Essigsäure erzeugt Ethanol etwas früher ein Ansteigen der Pulshöhen.

Es sei noch darauf hingewiesen, dass mit den Konzentrationen und vor allem pHs der Essigsäure in einem nahezu natürlichen Rahmen gearbeitet wird. Es sind also keine extremen Bedingungen wie ein pH von ≈ -1 bei der Salzsäureanregung nötig.

5.5.3. Pulshöhen und Ausbreitungsgeschwindigkeiten

Die Ausbreitungsgeschwindigkeiten der Pulse der Essigsäureanregung ($\text{pH} \approx 1,9$) auf DPPC-Monolayern werden wie in Abschnitt 5.3.3 beschrieben aus den Laufzeitdifferenzen zwischen den beiden Oberflächendrucksensoren bestimmt. Um den Einfluss des durch Säuretropfen beeinflussten Subphasen-pHs auf den DPPC-Monolayer zu minimieren, werden jeweils nur fünf Experimente (entsprechend $15\mu\text{l}$ Essigsäure) hintereinander durchgeführt. Der pH der Subphase bleibt so stets über ≈ 4 und ändert damit Abbildung 5.18 folgend die elastischen Eigenschaften des Monolayers nicht merklich. Die sich ergebenden Geschwindigkeiten sind in Abbildung 5.22 zusammen mit den Vorhersagen auf Grund der isothermen Kompressibilität κ_T nach $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ für $\omega = 2 \cdot \pi \cdot 1/9/18\text{Hz}$ über ein gesamtes Oberflächendruckspektrum zu sehen.

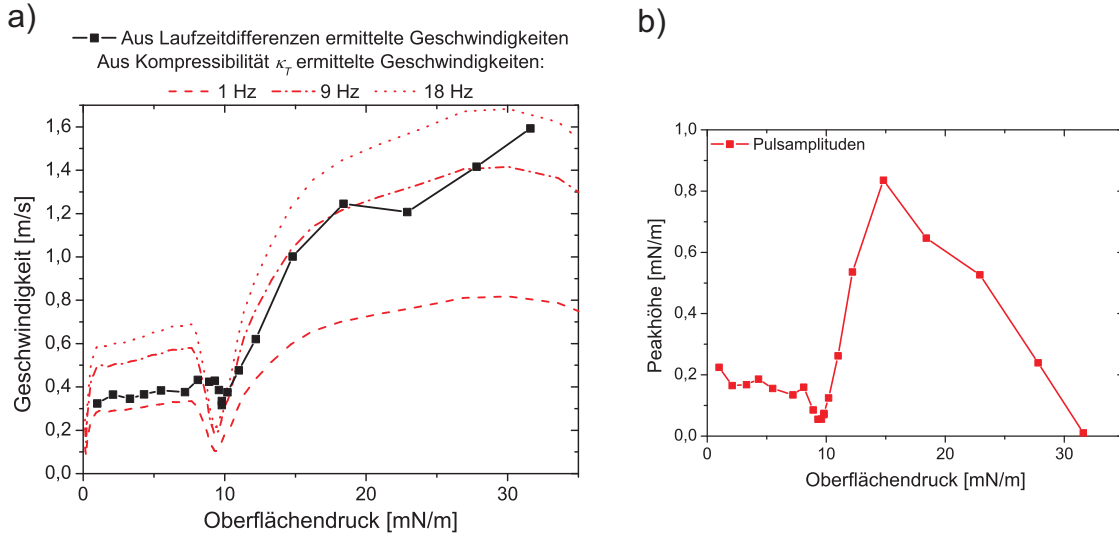


Abbildung 5.22.: a) Ausbreitungsgeschwindigkeiten der Pulse bei der Essigsäureanregung ($\text{pH} \approx 1,9$) auf einem DPPC-Monolayer (24°C) für verschiedene Oberflächendrücke. Die Geschwindigkeiten werden wie in Abschnitt 5.3.3 aus den Laufzeitdifferenzen der Anregungspulse bestimmt. Zusätzlich sind die Vorhersagen auf Grund der isothermen Kompressibilität κ_T nach $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ für $\omega = 2 \cdot \pi \cdot 1/9/18\text{Hz}$ zu sehen. b) Pulshöhen bei der Essigsäureanregung für verschiedene Oberflächendrücke der DPPC-Monolayer (24°C). Wieder zeigt sich ein Minimum während des Phasenübergangs und ein rapides Abnehmen zu hohen Oberflächendrücken hin.

Der Verlauf in Abbildung 5.22a) zeigt ein Minimum im Phasenübergangsbereich und, für die hohen Drücken der flüssig-kondensierten Phase, deutlich höhere Geschwindigkeiten, als κ_T erwarten lässt. Dies impliziert, dass die adiabatische Kompressibilität κ_S kleiner als κ_T ist und ein weniger ausgeprägtes Maximum während des Phasenübergangs besitzt. Der im Vergleich zur Salzsäureanregung (Abschnitt 5.4)

wesentlich gleichmäßigere Kurvenverlauf lässt sich auf die bessere Durchführbarkeit der Essigsäureanregung zurückführen und zeigt die gute Reproduzierbarkeit dieser Anregungsmethode. Die Geschwindigkeiten selbst liegen in einem Bereich zwischen $0,2 - 1,6 \frac{m}{s}$ und sind damit schneller als bei der Ethanolanregung (vgl. Abschnitt 5.3). Der Relation $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ folgend, bedeutet das, dass bei gleichem κ_S die maßgebenden Pulsfrequenzen der Essigsäureanregung, zumindest in den Oberflächendruckbereichen der flüssig-kondensierten Phase, höher sein müssen, als für Ethanol. Die zusätzlich eingetragenen Vorhersagen aus κ_T für $9Hz$ und $18Hz$ legen es nahe, dass bei hohen Drücken die Frequenzanteile um $\approx 9Hz$ dominanter werden. Dagegen muss für die niedrigen Drücke im flüssig-expandierten Bereich immer noch eine Frequenz von $\approx 1Hz$ maßgebend sein, da ansonsten $\kappa_S > \kappa_T$ wäre, was nach Gleichung 2.9 nicht möglich ist. Damit lässt sich für die Essigsäureanregung das Anregungsfrequenzspektrum je nach Phase bzw. Oberflächendruck des Monolayers in einen niederfrequenten ($\approx 1Hz$) und einen hochfrequenten ($\approx 9Hz$) Bereich untergliedern.

Die Kurve der Pulshöhen für die Essigsäureanregung, die in Abbildung 5.22b) zu sehen ist, ähnelt der von Ethanol (Abschnitt 5.3), besitzt aber etwas unterschiedliche Merkmale. So entwickeln sich die Peakhöhen der Essigsäureanregung während der flüssig-expandierten Phase nicht so steil wie bei der Ethanolanregung von höheren zu niedrigeren Pulsen hin. Darüber hinaus besitzen die Peakhöhen der Essigsäureanregung ein, relativ gesehen, wesentlich deutlicheres Maximum zu Beginn der flüssig-kondensierten Phase, als die der Ethanolanregung. Das bedeutet, dass die Affinität der Essigsäuremoleküle mit den Lipiden zu wechselwirken während niedrigen Drücken in der flüssig-expandierten Phase geringer ist, als bei der Ethanolanregung, für entsprechend höhere Drücke in der flüssig-kondensierten Phase aber der Einfluss der Essigsäuremoleküle auf die Lipide deutlich stärker zunimmt, als der von Ethanolmolekülen. Das könnte darauf hindeuten, dass sich die Essigsäuremoleküle tatsächlich näher an den Lipidkopfgruppen ansiedeln und erst mit den dichter gepackten Kohlenwasserstoffketten der flüssig-kondensierten Phase in deutliche Wechselwirkungen treten können.

5.5.4. Oberflächenpotential und dessen Kopplung an den Oberflächendruck

Für die Essigsäureanregung soll zusätzlich (nicht zuletzt um den Bezug zur Nervenreizleitung zu unterstreichen) die Änderung des Oberflächenpotentials der DPPC-Monolayer bei der Pulsausbreitung betrachtet werden. Dazu ist in Abbildung 5.23a)

die Isotherme des Oberflächendrucks π eines DPPC-Monolayers zusammen mit dem entsprechenden Oberflächenpotentialverlauf Ψ zu sehen. Letzterer wird mit Hilfe einer Kelvinsonde, wie in Abschnitt 2.4.3 beschrieben, gemessen.

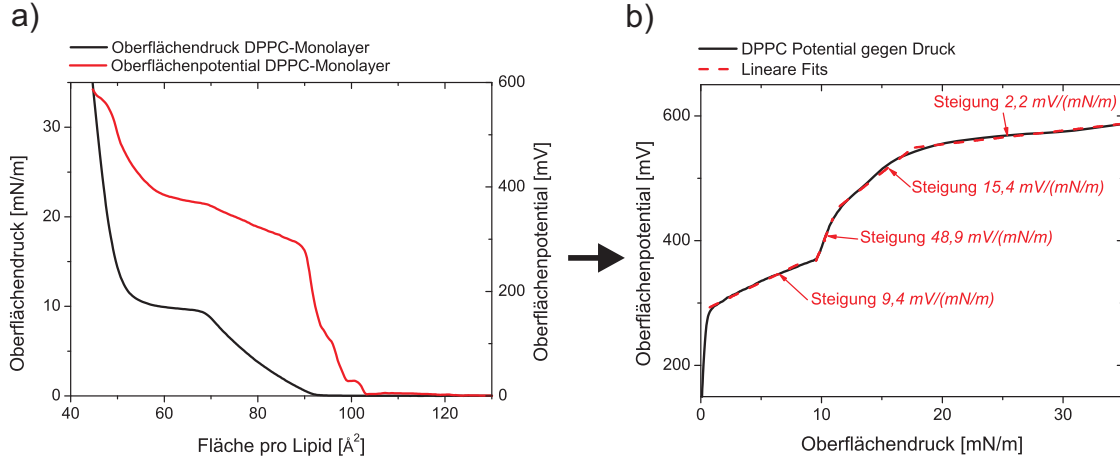


Abbildung 5.23.: a) Oberflächendruck- und Oberflächenpotentialisotherme eines DPPC-Monolayers (24°C). Potentialmessungen werden wie in Abschnitt 2.4.3 beschrieben mit einer Kelvinsonde durchgeführt. Der Potentialverlauf gleicht dem Druckverlauf ab dem Erreichen der flüssig-expandierten Phase. b) Die sich aus a) ergebende Oberflächendruck-Oberflächenpotential-Funktion $\Psi(\pi)$. Sie ist in mehrere Abschnitte unterteilt, für die jeweils ein linearer Fit mit der entsprechenden Steigung angegeben ist. Durch diese Fits können auf einfache Art und Weise Oberflächendruckverläufe in guter Näherung in Oberflächenpotentialverläufe umgerechnet werden.

Abbildung 5.23a) zeigt, dass sich der Potential- und der Druckverlauf ab dem Beginn der flüssig-expandierten Phase gleichen. Die mikroskopischen Ursachen dieses Verhaltens und das starke Ansteigen des Potentials vor der flüssig expandierten Phase, das dem Ansammeln der Lipide zu einem geschlossenen Monolayer entspricht, sind in Abschnitt 2.4.3 ausführlicher dargestellt und sollen nicht weiter erörtert werden. Hier soll noch weiter darauf eingegangen werden, wie sich aus den Kurven in Abbildung 5.23a) eine Verknüpfung von Oberflächendruck und Oberflächenpotential, entsprechend einer Funktion $\Psi(\pi)$, extrahieren lässt. Eine solche Verknüpfung ist sinnvoll, da sowohl Druck als auch Potential, von den selben Eigenschaften der Lipide, insbesondere derer Kohlenwasserstoffketten und Kopfgruppen, definiert werden und abhängen (siehe Abschnitt 2.4.3). In den Isothermen in Abbildung 5.23a) werden diese Abhängigkeiten jeweils durch die Lipidfläche A in den Funktionen $\pi(A)$ und $\Psi(A)$ ausgedrückt. Um die sich damit ergebende Verknüpfung quantifizieren zu können, werden die Drücke und Potentiale der selben Lipidflächen aus Abbildung 5.23a) miteinander assoziiert. Dies entspricht dem Auflösen der Druckkurve $\pi(A)$ und der Potentialkurve $\Psi(A)$ nach der Lipidfläche A und anschließendem Gleich-

setzen und Umstellen zu einer Funktion $\Psi(\pi)$. Letztere Funktion ist in Abbildung 5.23b) zu sehen.

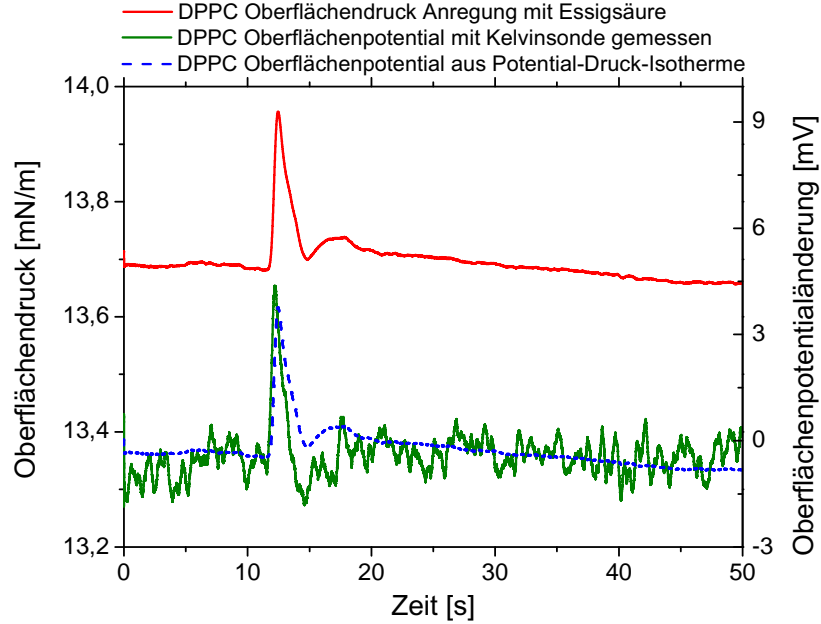


Abbildung 5.24.: Aufzeichnung des Oberflächendrucks und des Oberflächenpotentialverlaufes eines Pulses der Essigsäureanregung eines DPPC-Monolayers (24°C). Es ist zu erkennen, dass die qualitativen Verläufe von Druck und Potential einander gleichen. Für den quantitativen Vergleich wird die relative Oberflächendruckänderung mit Hilfe der Steigungen aus Abbildung 5.23b) (hier benutzt: $15,4 \frac{\text{mV}}{\frac{\text{mN}}{\text{m}}}$) in die relative Oberflächenpotentialänderung umgerechnet und mit der tatsächlichen Potentialmessung verglichen. Es zeigt sich eine sehr gute quantitative Übereinstimmung.

In Abbildung 5.23b) ist der exakte Verlauf von $\Psi(\pi)$ gegeben. Um eine Umrechnung von Werten von π in Werte von Ψ auf einfache Art zu realisieren, werden die einzelnen Bereiche von $\Psi(\pi)$ durch lineare Fits genähert. Für diese sind in Abbildung 5.23b) die entsprechenden Steigungen angegeben. Kennt man eine Wertänderung oder einen Verlauf für π kann damit sofort auf die Wertänderung oder den Verlauf für Ψ geschlossen werden. Auf diese Art und Weise könnte der Pulsverlauf der Essigsäureanregung im Oberflächendruck in den entsprechenden Verlauf des Oberflächenpotentials umgerechnet werden. Dazu muss aber zunächst nachgewiesen werden, dass die von Abbildung 5.23b) implizierte Funktion $\Psi(\pi)$ auch für dynamische Prozesse eine gute Näherung liefert, da das benutzte $\Psi(\pi)$ aus statischen Isothermen ermittelt wird. Für den Nachweis wird das Oberflächenpotential mit Hilfe einer zwischen den beiden Drucksensoren montierten Kelvinsonde für die Essigsäureanregung eines DPPC-Monolayers direkt gemessen. In Abbildung 5.24 ist das Ergebnis zusammen mit den Vorhersagen durch die linearen Näherungen der Funktion $\Psi(\pi)$ zu sehen.

Zunächst ist zu erkennen, dass sich das gemessene Oberflächenpotential dem Oberflächendruckpuls entsprechend mitverändert. Tatsächlich entsprechen die aus der statischen Messung von Isothermen gewonnenen Vorhersagen für die Oberflächenpotentialpulse den direkt gemessenen Veränderungen quantitativ und qualitativ sehr gut. Da die direkte Messung der Oberflächenpotentialpulse sehr aufwendig ist, wird im folgenden Abschnitt 5.6 aus den einfacheren statischen Messungen von Monolayer-Isothermen eine Vorhersage für den Oberflächenpotentialverlauf von Anregungspulsen gewonnen und von einer direkten Oberflächenpotentialmessung letzterer abgesehen.

5.6. Anregung natürlicher Lipidsysteme

Die folgenden Experimente betrachten die Essigsäureanregung von Schweinehirnlipid-Monolayern auf Ringerlösung (siehe Anhang B.1) bei 24°C . Die gezeigten Versuche werden entsprechend Abschnitt 5.2.2 unter Benutzung einer *Eppendorf*-Pipette durchgeführt ($3\mu\text{l}$ Tropfen). Die Zusatzbarriere (vgl. Abbildung 5.5) wird verwendet. Um einen direkten physiologischen Vergleich zu rechtfertigen, werden alle Experimente mit Schweinehirnlipid auch bei 37°C durchgeführt. Letztere Versuche sind nahezu identisch zu denen bei 24°C , aber durch die hohe Temperatur erschwert und deshalb in schlechterer Qualität (auf Grund höheren Wasserlöslichkeit der Lipide, thermische Kapillarwellen, etc.). Die entsprechenden Graphen für 37°C werden zum Vergleich in Anhang B.8 aufgeführt. Folgender Abschnitt soll vor allem dazu dienen die natürliche und physiologische Relevanz der durchgeführten Anregungen nachdrücklich zu begründen.

5.6.1. Isothermen und Pulsformen in Potential und Druck

Um dieses Kapitel abzuschließen, soll ein natürliches Lipidsystem mit Essigsäure angeregt werden. Als natürliches System dient der Lipidextrakt eines Schweinehirns, der auf einer Ringerlösung als Monolayer aufgebracht wird. Letztere Lösung erzeugt die typischerweise im Körper vorkommenden Bedingungen an der Lipid-Wasser-Grenzfläche von Zellen (Ringerlösung wird in der Medizin oftmals in Form von Infusionen verwendet). Sie beinhaltet verschiedene Salze (NaCl , KCl , MgCl), Zucker ($D - \text{Glukose}$), Phosphate (NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4) und einen Puffer (NaHCO_3) der den pH-Wert der Lösung konstant bei ≈ 7 hält. Um den Bezug zu natürlichen Zellwänden besser zu geben, werden im folgenden vor allem Beispiele für Oberflächendrucke von $\approx 25 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$ gezeigt, da dieser Monolayerdruck dem in Lipidvesikeln und dementsprechend Zellwänden nahekommt [19].

5.6. Anregung natürlicher Lipidsysteme

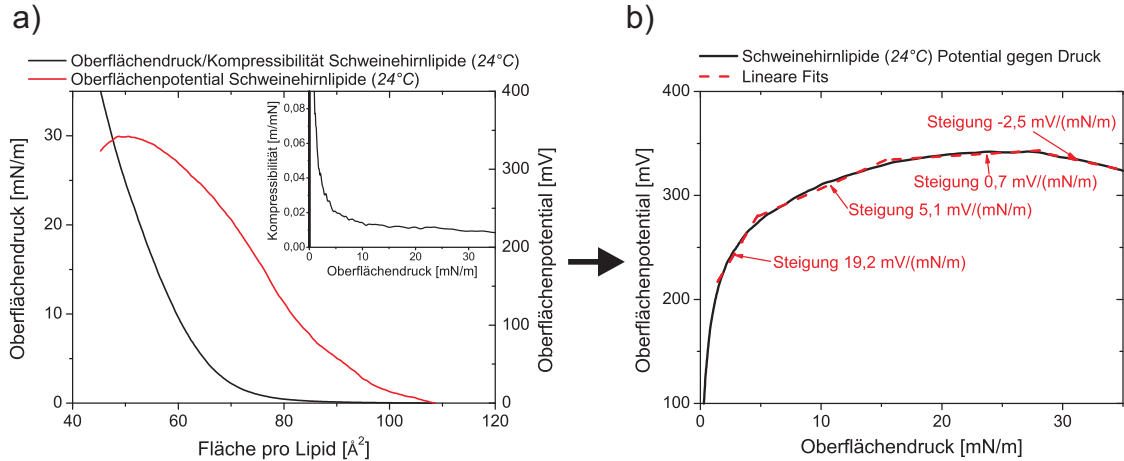


Abbildung 5.25.: a) Isothermen des Oberflächendrucks und des Oberflächenpotentials von Schweinehirnlipiden auf Ringerlösung (24°C). Keinerlei Phasenübergangsplateaus lassen sich in den Kurven erkennen. Auffällig ist das Maximum, das für das Oberflächenpotential entsteht. Zusätzlich zeigt der Inset die entsprechende isotherme Kompressibilität κ_T . b) Die sich aus a) ergebende Verknüpfung des Oberflächenpotentials mit dem Oberflächendruck in Form der Funktion $\Psi(\pi)$. Zur späteren Verwendung sind lineare Fits für die verschiedenen Abschnitte der Kurve samt ihrer Steigungen angegeben.

Eine Isotherme des Oberflächendrucks π und des Oberflächenpotentials Ψ von Schweinehirnlipiden auf Ringerlösung ist in Abbildung 5.25a) zu sehen. Es zeigt sich ein stetig zunehmender Verlauf von π , der keinerlei erkennbare Plateaus besitzt, wie beispielsweise für die DPPC-Monolayer. Dies gründet sich darin, dass die Schweinehirnlipide eine Lipidmischung aus verschiedensten Lipiden (darunter auch DPPC) sind, so dass die Form der Isotherme (Phasen und Phasenübergang) ein Mittel über die Einzelkomponenten der Mischung darstellt, welches durch Mischungsverhältnis und Mischbarkeit der Lipide definiert wird. Dagegen zeigt die Kurve von Ψ in Abbildung 5.25a) ein maximales Oberflächenpotential bei ca. 55 Å^2 bzw. $30 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$. Dieses Verhalten kann nur schwer einer gewissen Eigenschaft der Schweinehirnlipide zugeordnet werden. Zum einen sind die verschiedenen Lipidbestandteile und deren Einflüsse nur schwer zu separieren. Zum anderen hängt Ψ nun nicht nur von den Dipolen der Lipidkopfgruppen und terminalen CH_3 -Gruppen der Kohlenwasserstoffketten ab, sondern auch von den Salzen und Bestandteilen der Subphase. Einzig lässt sich aussagen, dass in diesem gesamten System bei einem gewissen Oberflächendruck ($\approx 30 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$) des Schweinehirnlipid-Monolayers ein Oberflächen-, bzw. Grenzflächenpotential entsteht, das in diesem Bereich nur wenig auf Veränderungen der Lipidfläche reagiert.

Trotz des unspezifischen Systems der Schweinehirnlipide, erlaubt Abbildung 5.25a)

die Bestimmung der Verknüpfung von Oberflächendruck π und Oberflächenpotential Ψ . Diese Funktion $\Psi(\pi)$ ist in Abbildung 5.25b) zu sehen, wobei die linearen Fits der verschiedenen Abschnitte von $\Psi(\pi)$ mit den zugehörigen Steigungen eingetragen sind. Es zeigt sich, dass bei hohen Oberflächendrücken die Funktion $\Psi(\pi)$ sehr flach wird, so dass große Veränderungen von π nur noch kleine Änderungen in Ψ erzeugen. Dennoch kann $\Psi(\pi)$ wieder dazu verwendet werden um Abschnitt 5.5.4 folgend aus den Oberflächendruckverläufen der Essigsäureanregungspulse die entsprechenden Verläufe des Oberflächenpotentials zu bestimmen. Die sich damit, auf einem Schweinehirnlipid-Monolayer, ergebende Pulsverläufe von π und Ψ sind in Abbildung 5.26a) zu sehen.

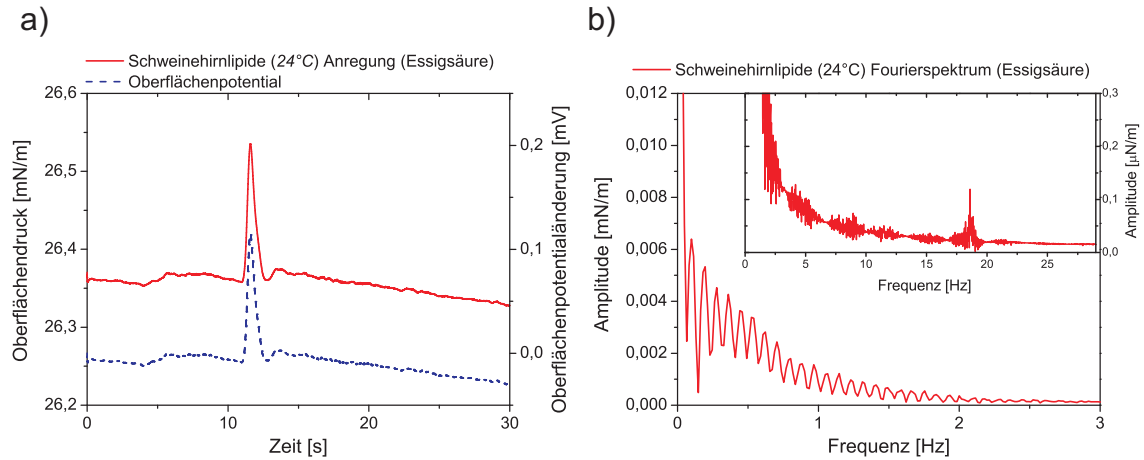


Abbildung 5.26.: a) Gemessene Oberflächendruckpulsform zusammen mit der aus $\Psi(\pi)$ ermittelten Oberflächenpotentialform eines Anregungspulses bei der Essigsäureanregung eines Schweinehirnlipid-Monolayers auf Ringerlösung (24°C). Die Verläufe sind auf Grund der linearen Näherung von $\Psi(\pi)$ identisch, wobei sich das Oberflächenpotential nur in einem Bereich von $< 0,2\text{mV}$ ändert. b) Fourieranalyse der Druckpulse aus a) in den Bereichen $0-3\text{Hz}$ und $0-30\text{Hz}$ (Inset). Das Anregungsspektrum ähnelt dem eines DPPC-Monolayers (24°C) und zeigt auch die hochfrequenten Anteile bei 9Hz bzw. 18Hz .

Die durch Essigsäure auf Schweinehirnlipid-Monolayern erzeugten Anregungspulse ähneln denen auf DPPC-Monolayern sowohl in der Pulshöhe als auch der Form. In Ψ ergibt sich auf Grund der linearen Näherung von $\Psi(\pi)$ der selbe Pulsverlauf, der eine Amplitude von nur $< 1\text{mV}$ besitzt, was sich in der geringen Steigung von $\Psi(\pi)$ im gewählten Druckbereich begründet. Um die Pulsform weiter zu analysieren ist in Abbildung 5.26b) das zu Abbildung 5.26a) gehörige Fourier-Spektrum des Oberflächendruckpulses zu sehen. Die Amplitudenverteilung im Bereich von $0-3\text{Hz}$ gleicht der, die sich bei Anregung von DPPC-Monolayern mit Essigsäure ergibt. Sogar im Bereich von $0-30\text{Hz}$ zeigt die Anregung von Schweinehirnlipiden entspre-

chende Frequenzanteile bei $\approx 9\text{Hz}$ bzw. $\approx 18\text{Hz}$, so dass im Folgenden Pulsfrequenzen von $\approx 1\text{Hz}$ bzw. $\approx 9\text{Hz}$ betrachtet und angenommen werden. Aus dem nahezu identischen Verhalten der Pulse auf Schweinehirnlipid-Monolayern (eine Mischung aus extrem vielen Lipidkomponenten mit 9,6% PC-Lipiden, siehe Anhang B.1) und DPPC-Monolayern (100% PC-Lipide), lässt sich folgern, dass die Essigsäureanregung nur in geringem Maße von der Lipidkomposition des angeregten Monolayers abhängt. Das bedeutet dass die Wechselwirkungen der Essigsäuremoleküle mit den Lipiden vermutlich sehr allgemein und unspezifisch sind und weder spezielle Kopfgruppen, noch spezielle Kohlenwasserstoffketten zur Essigsäureanregung notwendig sind (vgl. Abschnitt 5.5).

5.6.2. pH-Abhängigkeit

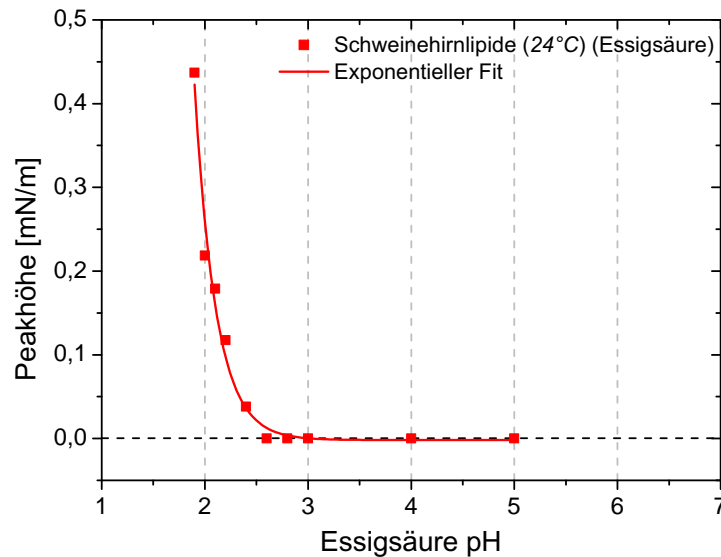


Abbildung 5.27.: Abhängigkeit der Pulshöhen vom pH der Essigsäuretropfen bei der Anregung von Schweinehirnlipid-Monolayern (24°C) bei einem Oberflächendruck von $\approx 7 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$. Es zeigt sich ein rapides Einsetzen der Anregbarkeit bei einem pH von $\approx 2,4$, ähnlich zu dem Verhalten auf DPPC-Monolayern. Zusätzlich ist der exponentielle Fit der Messpunkte eingetragen.

Die Abhängigkeit der Pulshöhen vom pH der Essigsäure bei der Anregung von Schweinehirnlipid-Monolayern ist in Abbildung 5.27 zu sehen. Wie bei der Essigsäureanregung eines DPPC-Monolayers zeigt sich ein scharfes Übergehen von keinerlei Anregbarkeit des Schweinehirnlipid-Monolayers, zu Anregbarkeit in einem Bereich von pH 2 – 2,4. Das bedeutet, dass selbst für Lipidmischungen eine gewisse Mindestkonzentration nötig ist, damit sich die Essigsäure in ausreichendem Maße im

Monolayer löst, so dass dieser angeregt wird. Wie im vorigen Abschnitt 5.6.1 bereits angedeutet, spricht dies dafür, dass die Essigsäuremoleküle sehr unspezifisch mit den verschiedensten Lipidtypen wechselwirken können.

5.6.3. Pulshöhen und Ausbreitungsgeschwindigkeiten

Die Laufzeitdifferenzen der mit Essigsäure ($\text{pH} \approx 1,9$) angeregten Schweinehirnlipid-Monolayer, werden wieder wie in Abschnitt 5.3.3 dazu benutzt, die Ausbreitungsgeschwindigkeiten der Anregungspulse zu bestimmen. Die resultierenden Geschwindigkeitskurven sind in Abbildung 5.28a) zu sehen. Die Vorhersagen auf Grund der isothermen Kompressibilität κ_T nach $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ sind für zwei Frequenzen $\omega = 2 \cdot \pi \cdot 1/9\text{Hz}$ miteingetragen. Die direkt gemessenen und vorhergesagten Geschwindigkeiten liegen in einem Bereich von $0,2 - 1,0 \frac{\text{m}}{\text{s}}$. Für niedrige Monolayerdrücke ($< 10 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$) zeigt sich eine Übereinstimmung der direkt aus den Laufzeitdifferenzen ermittelten Geschwindigkeiten mit den 1Hz -Vorhersagen, die für hohe Drücke ($> 15 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$) in eine Übereinstimmung mit den 9Hz -Vorhersagen übergeht. Wie κ_T (siehe Abbildung 5.25) impliziert, zeigen sich keinerlei Minima oder Maxima, sondern die Ausbreitungsgeschwindigkeiten erreichen ab einem gewissen Druck einen Maximalwert von $\approx 1 \frac{\text{m}}{\text{s}}$.

Der Übergang von den 1Hz -Vorhersagen zu den 9Hz -Vorhersagen im Vergleich zu den direkt gemessenen Ausbreitungsgeschwindigkeiten deutet an, dass es sich dabei um kein lipidphasenspezifisches Verhalten handelt, da es hier für eine natürliche Lipidmischung von Schweinehirnlipiden auftritt. Rückschließend kann damit gefolgert werden, dass es sich auch für die Essigsäureanregung der reinen DPPC-Monolayer nicht um ein lipidphasen- sondern oberflächendruckabhängiges Verhalten gehandelt hat. Sowohl für Schweinehirnlipid- als auch für DPPC-Monolayer tritt dieser Übergang (1Hz zu 9Hz) in einem Bereich von $10 - 15 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$ auf. Er impliziert ein in diesem Druckbereich beschleunigendes Wechselwirkungsverhalten der Essigsäuremoleküle mit den Lipiden der Monolayer.

Abschließend sind die oberflächendruckabhängigen Pulshöhen in Abbildung 5.28b) zu sehen und zeigen im wesentlichen ein Abnehmen hin zu hohen Drücken. Die entsprechenden Pulshöhen eines reinen DPPC-Monolayers (vgl. 5.22) zeigen hingegen ein Verhalten, das von der Phase des Monolayers abhängt. Zwar könnten die einzelnen Lipidtypen der Schweinehirnlipidmischung eine phasenabhängige Essigsäurelöslichkeit aufweisen, doch geht dies in der Mittelung über alle Typen unter und es bleibt ein leichtes Absinken der Pulsamplituden für die Schweinehirnlipid-Monolayer. Letzteres Absinken impliziert wie bei DPPC-Monolayern die Verringerung der Löslichkeit von Essigsäure in Schweinehirnlipid-Monolayern bei hohen Oberflächendrücken ($> 20 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$) und damit großen Lipiddichten.

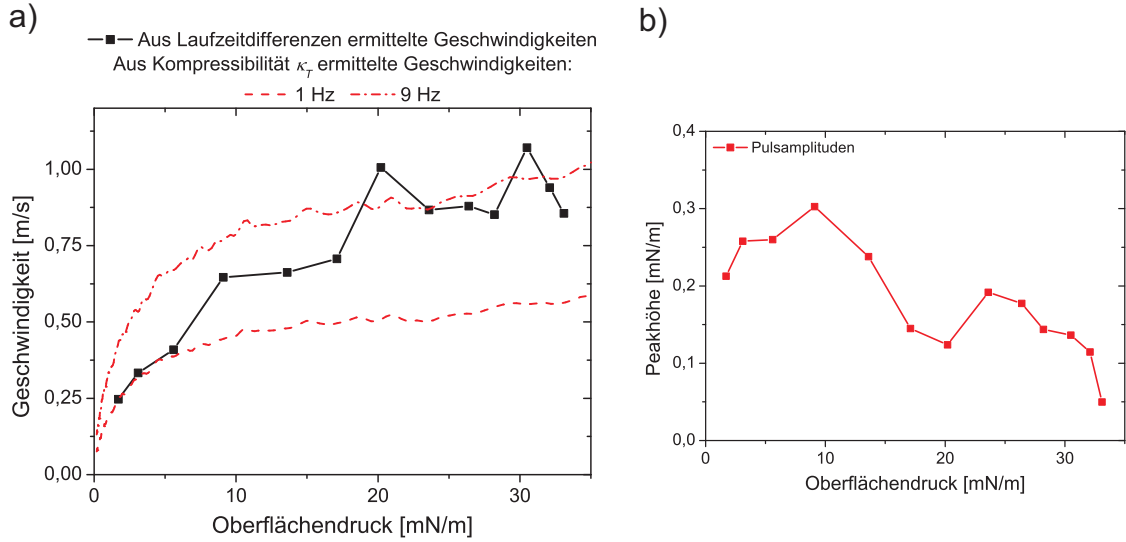


Abbildung 5.28.: a) Ausbreitungsgeschwindigkeiten der Pulse bei der Essigsäureanregung ($\text{pH} \approx 1,9$) auf Schweinehirnlipid-Monolayern (24°C auf Ringerlösung) für verschiedene Oberflächendrücke. Die Geschwindigkeiten werden wie in Abschnitt 5.3.3 aus den Laufzeitdifferenzen der Anregungspulse bestimmt. Zusätzlich sind die Vorhersagen auf Grund der isothermen Kompressibilität κ_T nach $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ für $\omega = 2 \cdot \pi \cdot 1/9\text{Hz}$ zu sehen. b) Pulshöhen bei der Essigsäureanregung für verschiedene Oberflächendrücke der Schweinehirnlipid-Monolayer (24°C).

5.7. Zusammenfassung

Die Anregung von Lipid-Monolayern durch verschiedene Substanzen spielte die zentrale Rolle dieses Kapitels. Durch das Aufbringen von Tropfen verschiedener Lösungsmittel oder Säuren auf Lipid-Monolayer wurden, durch die Wechselwirkungen der aufgetragenen Stoffe mit den Lipid-Monolayern, Pulse erzeugt. Diese konnten mit Hilfe von zwei Drucksensoren bezüglich ihrer Form, ihrer Höhe, ihres Frequenzspektrums, ihrer Geschwindigkeit und ihrer Konzentrations- bzw. pH-Abhängigkeit untersucht werden.

Zunächst wurde die theoretische Beschreibung von Dichtewellen auf Monolayern, die viskos an die Subphase gekoppelt sind, hergeleitet. Die sich ergebende Dispersionsrelation wies zwei deutliche Grenzfälle auf. Zum einen einen hochfrequenten Grenzfall, der einer rein akustischen Welle ähnelt, vergleichbar zur theoretischen Beschreibung bei der elektrischen Anregung (Kapitel 4). Zum anderen einen niederfrequenten Grenzfall, dessen Wellenlösungen für die Beschreibung der in diesem Kapitel erzeugten Pulse dienen sollte. Für diese wurde eine Relation für ihre Ausbreitungsgeschwindigkeiten hergeleitet, die im wesentlichen von der Wurzel des Kehrwertes der adiabatischen Kompressibilität κ_S und der vierten Wurzel der Frequenz ω der Wellen oder Pulse abhing.

Anschließend wurde die Anregung von DPPC-Monolayern mit verschiedenen Substanzen untersucht und zunächst diverse Lösungsmittel (Ethanol, Methanol, Pentan und Chloroform) näher betrachtet. Es zeigte sich für alle Lösungsmittel ein lokales Expandieren der Lipid-Monolayer, wobei Pentan und Chloroform über mehrere zehn Sekunden in den Monolayern verweilten, bevor sie in die Umgebung abdampften. Ethanol und Methanol hingegen lösten sich nach der Wechselwirkung mit den Monolayern direkt in den Wassersubphasen und erzeugten so kurze, deutliche Pulse. Die entsprechenden Frequenzspektren der Pulse zeigten für die Alkohole um $\approx 1\text{Hz}$ ihren Hauptanteil. Diese Frequenz wurde dazu benutzt, um zusammen mit der isothermen Kompressibilität κ_T , aus den zuvor gemachten theoretischen Herleitungen, eine Vorhersage für die Ausbreitungsgeschwindigkeiten der Pulse zu erhalten, die mit den direkt, aus den Laufzeitdifferenzen zwischen den beiden Drucksensoren, ermittelten Geschwindigkeiten verglichen werden konnte und gute Übereinstimmungen lieferte. Wegen der kurzen, deutlichen Pulse, die Ethanol auf den DPPC-Monolayern erzeugte, wurde es für die folgenden genaueren Analysen und Rückschlüsse auf Relaxationszeiten und κ_S benutzt. So wurde aus dem exponentiellen Abklingverhalten der Anregungspulse eine Relaxationszeit τ ermittelt, die mit den theoretisch auf Grund von $\kappa_{S/T}$ erwarteten verglichen werden konnte. Die anschließende Berechnung von κ_S aus den direkt gemessenen Pulsgeschwindigkeiten der Ethanolanregung zeigte zudem, dass $\kappa_S < \kappa_T$, wie es die Betrachtungen in Kapitel 4 bereits implizierten.

Für die Salzsäureanregung von DPPC-Monolayern war ein äußerst niedriger pH von ≈ -1 der Salzsäure notwendig. Wie die genaue Analyse des Anregungsverhaltens zeigte, bildete sich bei diesem pH eine Salzsäuredampfphase über den Salzsäuretropfen aus, die den pH-Wert am Lipid-Monolayer stark erniedrigte und diesen so kondensierte. Es stellte sich heraus, dass nur diese Gasphase die beobachteten Pulse erzeugte und nicht das eigentliche Abtropfen der Salzsäure auf den Monolayer und in die Subphase. Der kurze Moment vor dem Aufbringen des Salzsäuretropfens, während dessen die Gasphase der Salzsäure über dem Monolayer stand, wurde nun dazu genutzt, möglichst reproduzierbare Pulse auf DPPC-Monolayern anzuregen. Die Frequenzspektren implizierten für Salzsäure nur Frequenzen von $\approx 0,5\text{Hz}$ und es wurden dementsprechend etwas niedrigere Ausbreitungsgeschwindigkeiten gemessen als zuvor für die Lösungsmittel.

Die Anregung von DPPC-Monolayern mit Hilfe von Essigsäure zeigte starke Parallelen zur Ethanolanregung, was sich in der Ähnlichkeit der Strukturen beider Anregungsmoleküle begründet. Bei der Anregung ergab sich für Essigsäure ein schnelles, pH-abhängiges Übergehen von Nicht-Anregbarkeit zu Anregbarkeit in einem pH-Bereich von $\approx 2,1 - 2,4$. Darüber hinaus besitzen die erzeugten Essigsäurepulse,

im Gegensatz zu Ethanol, nicht nur bei $\approx 1\text{Hz}$ Frequenzanteile, sondern auch bei $\approx 9\text{Hz}$ und $\approx 18\text{Hz}$. Die Geschwindigkeitsanalyse zeigte, dass die niedrigen Frequenzen ($\approx 1\text{Hz}$) charakteristisch für die Ausbreitung der Pulse auf DPPC-Monolayern niedrigen Oberflächendruckes ($< 10\frac{\text{mN}}{\text{m}}$), die höheren Frequenzen ($\approx 9\text{Hz}$) dagegen charakteristisch für die Ausbreitung der Pulse auf DPPC-Monolayern höheren Oberflächendruckes ($> 15\frac{\text{mN}}{\text{m}}$) sind. Essigsäure zeichnete sich mit diesen Eigenschaften von allen bis dort hin betrachteten Substanzen aus.

Um die Relevanz der Essigsäureanregung in natürlichen Prozessen (vor allem im synaptischen Spalt von Nervenzellen), zu unterstreichen, wurde abschließend ein natürliches Lipidsystem in Form von Schweinehirnlipid-Monolayern benutzt. Diese konnten mit Hilfe der Essigsäure genauso angeregt werden, wie zuvor die DPPC-Monolayer. Es zeigten sich sowohl die Frequenzanteile bei 9Hz , als auch eine pH-Abhängigkeit des Übergangs von Nicht-Anregbarkeit zu Anregbarkeit der Monolayer. Alle Versuche zu Schweinehirnlipiden wurden sowohl bei 24°C als auch bei 37°C auf Ringerlösung durchgeführt und zeigten so, dass die Essigsäureanregung von Lipidmembranen für natürliche Vorgänge von Bedeutung sein könnte.

Auf Grund der einfachen Lipid-Monolayer-Anregung dieses Kapitels rechtfertigt sich eine genauere Betrachtung der Idee, Nervenreize als Druckpulse auf der Nervenmembran zu interpretieren. Dementsprechend wird im folgenden Kapitel eine Wellentheorie der Nervenreizleitung entwickelt und vorgestellt, die die bekannte Theorie nach Hodgkin und Huxley benutzt und in vereinfachter Form beinhaltet.

Kapitel 6: Wellenphänomene zur Beschreibung der Nervenreizleitung

Die Experimente zur natürlichen Anregung von Lipid-Monolayern (vgl. Kapitel 5), zeigten sehr klar, wie selbst auf Schweinehirnlipid-Monolayern auf einfache Art und Weise Pulse erzeugt werden konnten. Diese besitzen, im nahezu physiologischen Druckbereich ($\approx 25 \frac{mN}{m}$ [19]), Ausbreitungsgeschwindigkeiten von $\approx 1 \frac{m}{s}$ und liegen damit in dem Bereich, in dem sich Reize auf unmyelinisierten Nerven ausbreiten ($1 - 5 \frac{m}{s}$ [16]). Unmyelinisiert bedeutet in diesem Zusammenhang, dass keine zusätzlichen Schwann-Zellen um das Nervenaxon gewickelt sind, so wie es in Abbildung 6.1 angedeutet ist.

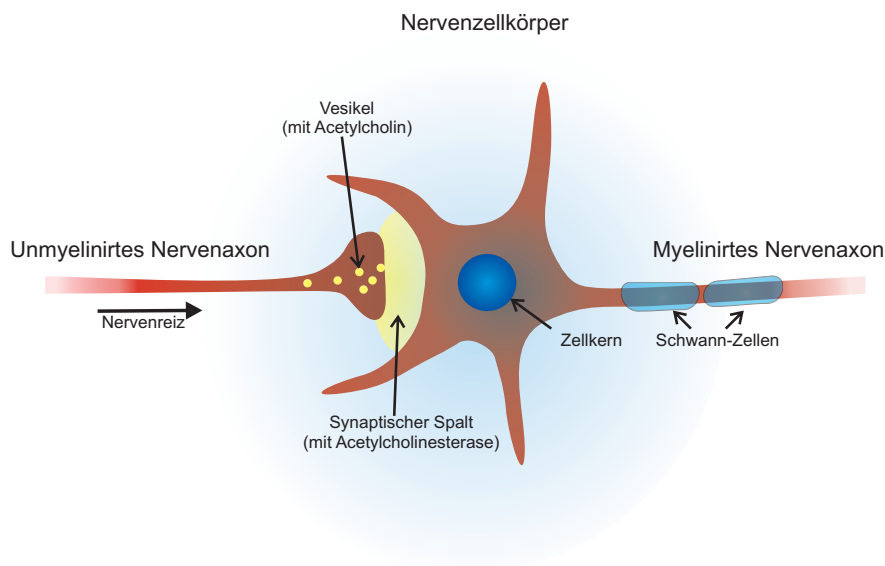


Abbildung 6.1.: Schematische Skizze des synaptischen Spaltes zwischen zwei Nervenzellen. Das linke Axon ist unmyelinisiert und ist deswegen im Gegensatz zum rechten myelinisierten Axon nicht von Schwann-Zellen umwickelt. Kommt ein Reiz am linken Nerven an, werden Vesikel mit Acetylcholin ausgeschüttet, die sich durch eine Verschmelzung mit der Nervenzellmembran in den synaptischen Spalt entleeren. Dort wird das Acetylcholin von dem Enzym Acetylcholinesterase in kürzester Zeit in Cholin und Essigsäure aufgespalten.

Die Lipid-Membranen der Nervenzellen sind im Gegensatz zu den untersuchten Monolayern, Bilayer, wobei letztere, wie bereits erläutert (vgl. Abschnitt 2.5), sehr eng zueinander verwandt sind. Außerdem bleiben die Gleichungen für die longitudinale Wellenausbreitung (mit oder ohne viskose Kopplung: 4.7 oder 5.4) völlig unbeeinflusst, nimmt man an, ein Bilayer besteht aus zwei weitestgehend entkoppelten Monolayern [49, 38, 50, 37, 42]. Auf Grundlage dessen, wird deshalb im folgenden Kapitel ein Vorschlag gemacht, wie die bestehende, am weitesten anerkannte Sichtweise der Nervenreizleitung nach Hodgkin und Huxley, mit der Idee einer propagierenden Welle auf den Nervenmembranen vereint werden könnte.

6.1. Parallelen der Essigsäureanregung zu den Vorgängen im synaptischen Spalt

In Abbildung 6.1 ist die Skizze des Synaptischen Spaltes zwischen dem Ende des Nervenaxons einer Nervenzelle und dem Zellkörper einer weiteren Nervenzelle zu sehen. Er ist nur wenige $10nm$ breit. Kommt am linken Axon in Abbildung 6.1 ein Nervenreiz an, so löst dieser die Produktion und Wandern von, mit Acetylcholin befüllten, Vesikeln aus. Diese verschmelzen mit der Zellmembran am Ende des Axons und geben so ihr Acetylcholin in den synaptischen Spalt ab, in dem die AcetylcholinKonzentration sehr schnell ($\approx 1 - 10ms$) auf $\approx 1 \frac{mmol}{l}$ ansteigt. Dadurch ausgelöst, so wird angenommen, dockt das Acetylcholin vermehrt an entsprechende Rezeptoren der rechten Nervenzelle in Abbildung 6.1 an und löst so einen Nervenimpuls aus [113]. Anschließend wird das Acetylcholin von einem sehr schnell arbeitenden Enzym, der Acetylcholinesterase, in Essigsäure (bzw. das Acetat, das sehr schnell protoniert wird) und Cholin zerlegt. Der gesamte Vorgang der Erregungsübertragung zwischen zwei Nervenzellen läuft innerhalb weniger ms ab, so dass Nervenzellen bis zu 1000 Nervenreize pro Sekunde abfeuern können [113].

Ausgehend von den in Kapitel 5 durchgeführten, einfachen Experimenten muss vermutlich davon ausgegangen werden, dass die Membran der angrenzenden rechten Nervenzelle (vgl. Abbildung 6.1) von der rapide entstehenden Essigsäure im synaptischen Spalt zusätzlich angeregt und ein Druckpuls (mit Frequenzen im $100Hz$ -bis $1000Hz$ -Bereich) auf der Nervenmembran erzeugt wird. Dies kann geschehen, ob das Acetylcholin zuvor an Rezeptoren andockt oder nicht. Für die Vorgänge im synaptischen Spalt ist es dementsprechend zu erwarten, dass mit einem durch Acetylcholinausschüttung angeregten Nervenreiz, gleichzeitig ein Druckpuls auf der Membran entstehen wird, der sich dann gemeinsam mit dem Nervensignal ausbreiten kann.

6.2. Theorie der Wellenausbreitung auf Membranen im Sinne der Nervenreizleitung

An dieser Stelle soll die Idee der Nervenreizleitung als Wellenphänomen (in Form von Druckpulsen) auf den Nervenzellmembranen genauer betrachtet und dazu benutzt werden, sie in einem eigenen theoretischen Modell zu formulieren. Eine erste Rechtfertigung für diese Idee liefern bereits die Formen der Druckpulse aus Kapitel 5 (beispielsweise Abbildung 5.26), die starke Ähnlichkeit zur Form des elektrischen Signals eines Nervenreizes (Aktionspotential) besitzen [113].

Vorteil der Sichtweise als Wellenphänomen wäre unter anderem, dass sie auf direktem Weg die mechanischen und thermischen Änderungen während eines Nervenreizes mitbeschreiben würde. Zur Veranschaulichung soll hier die Temperaturänderung auf einem Lipidmonolayer durch Druckpulse, wie sie in Kapitel 5 mit Essigsäure angeregt wurden, abgeschätzt werden. Benutzt man in Gleichung 4.9 die Beziehung $c_\pi = B_\pi A T \alpha_{pi}$ aus Anhang A.2, ergibt sich für die Temperaturänderung T' , dass $T' = \frac{\pi'}{B_\pi}$. Mit $B_\pi \approx 4,1 \cdot 10^{-3} \frac{N}{mK}$ (Anhang A.2) und einer Pulshöhe von $\approx 0,1 \cdot 10^{-3} \frac{N}{m}$ (vgl. Abschnitt 5.6 oder 5.5) wird impliziert, dass $T' \approx 10mK$ ist. Verglichen mit den auf Nerven gemessenen Temperaturänderungen von $\approx 2\mu K$ [11] während eines Aktionspotentials, ist dieses T' vergleichsweise groß. Das begründet sich zum einen darin, dass hier nicht die tatsächliche Druckpulsamplitude von Nervenreizen benutzt wurde. Zum anderen muss auch beachtet werden, dass bei den Messungen der Temperaturänderungen an Nerven nicht die tatsächliche Wärme in der Membran bestimmt wird, sondern nur durch einen Temperaturfühler auf der Membran gemessen wird. Berücksichtigt man dies, könnten solche Druckpulse die Temperaturänderungen bei Nervenreizen ohne weitere Annahmen erklären, wobei zugleich die mechanischen Veränderungen am Nerven inhärenter Bestandteil der Pulse wären.

Um zusätzlich die elektrische Erscheinung des Nervenreizes mit dem physikalischen Phänomen einer Welle (oder eines Druckpulses) zu verbinden, soll hier der Ionengradient, der um die Nervenmembran besteht, miteinbezogen werden. Dieser entsteht durch sogenannte Ionenpumpen (Proteine), und wird in den folgenden Abschnitten 6.3 und 6.4 genauer diskutiert. Hier soll die, durch den Ionengradienten an der Nervenzellmembran entstehende, Potentialänderung V während eines Nervenreizes mit in die Wellengleichung (vgl. Gleichung 5.4 Abschnitt 5.1.1) eingeführt werden, um auch die elektrischen Erscheinungen auf der Nervenmembran theoretisch einzubeziehen.

Die aus Abschnitt 5.1.1 bekannte Gleichung 5.4 soll im Folgenden in Abhängigkeit

vom Druck π' betrachtet und formuliert werden. Die Idee, wie das Potential V in diese Wellengleichung integriert werden kann, ist die Abhängigkeit der Membrandruckänderung π' von der Potentialänderung V . Abschnitt 5.6.1 folgend können die kleinen Änderungen von π' nur kleine Änderungen im Oberflächenpotential der Membran erzeugen (bei einem physiologischen Membrandruck von $\approx 25 \frac{mN}{m}$ bei Schweinehirnlipiden: $\approx 0,1 \frac{mN}{m} \cdot 1 \frac{mV}{\frac{mN}{m}} \approx 0,1 mV < 1-70 mV$). Dagegen können die großen Änderungen in V , die durch das Fließen der Ionenströme bei der Nervenreizleitung entstehen können (vgl. Abschnitt 6.3 und 6.4), sehr wohl merkliche Änderungen in π' hervorrufen (bei einem physiologischen Membrandruck von $\approx 25 \frac{mN}{m}$ bei Schweinehirnlipiden: $\approx 1 mV \cdot \frac{1}{1} \frac{\frac{mN}{m}}{mV} \approx 1 \frac{mN}{m}$). Der durch einen Potentialgradienten $\frac{\partial V}{\partial x}$ zusätzlich erzeugte Druckgradient $\frac{\partial \pi'_V}{\partial x}$ soll durch die Relation $\frac{\partial \pi'_V}{\partial x} = \chi \frac{\partial V}{\partial x}$ ausgedrückt werden, wobei $\chi \approx 1 \frac{\frac{mN}{m}}{mV}$ (vgl. Abschnitt 5.6.1).

Zum Aufstellen der entsprechenden Gleichungen werden die gleichen Voraussetzungen und Nomenklaturen wie in Abschnitt 5.1.1 benutzt. Zunächst gilt wiederum die Kontinuitätsgleichung (vgl. auch Gleichung 4.5).

$$\frac{\partial \pi'}{\partial t} = -\frac{1}{\kappa_S} \frac{\partial v_{mx}}{\partial x} \implies \frac{\partial^2 v_{mx}}{\partial x \partial t} = -\kappa_S \frac{\partial^2 \pi'}{\partial t^2} \quad (6.1)$$

In die Eulergleichung geht nun zusätzlich der durch die Spannung V erzeugte Druckgradient $\chi \frac{\partial V}{\partial x}$ ein und modifiziert Gleichung 5.3 folgendermaßen.

$$\begin{aligned} \rho_0 \frac{\partial v_{mx}}{\partial t} &= -\frac{\partial \pi'}{\partial x} - \xi v_{mx} - \chi \frac{\partial V}{\partial x} \\ \implies \rho_0 \frac{\partial v_{mx}}{\partial t \partial x} &= -\frac{\partial^2 \pi'}{\partial x^2} - \xi \frac{\partial v_{mx}}{\partial x} - \chi \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} \end{aligned} \quad (6.2)$$

Zusammen mit Gleichung 5.9, in der $\xi = e^{i\frac{\pi}{4}} \sqrt{\omega \rho_w \eta_w}$, ergibt sich durch Verwenden und Gleichsetzen von Gleichungen 6.1 und 6.2 die Wellengleichung der Ausbreitung.

$$-\kappa_S \rho_0 \frac{\partial^2 \pi'}{\partial t^2} + \frac{\partial^2 \pi'}{\partial x^2} - \kappa_S e^{i\frac{\pi}{4}} \sqrt{\omega \rho_w \eta_w} \frac{\partial \pi'}{\partial t} + \chi \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = 0 \quad (6.3)$$

Um diese Gleichung zu lösen, ist es nötig den Term $\chi \frac{\partial^2 V}{\partial x^2}$ genauer zu identifizieren und bestenfalls in eine einfache Relation zur Oberflächendruckänderung π' zu bringen. Da V durch die Ionengradienten und Ionenströme um und durch die Membran bestimmt ist, soll im folgenden die Theorie der Nervenreizleitung nach Hodgkin und Huxley beschrieben werden, die im wesentlichen auf diesen Strömen und Gradienten beruht. Im Anschluss soll diese Theorie modifiziert werden, um den Term $\chi \frac{\partial^2 V}{\partial x^2}$ in Abhängigkeit von π' darzustellen.

6.3. Die Theorie nach Hodgkin und Huxley

In der Reihe ihrer Arbeiten [8] ist eine der Grundideen, die Hodgkin und Huxley formulieren, dass sich die Membran durch ein elektrisches Ersatzschaltbild darstellen lässt. Die Membran beinhaltet dabei ionenspezifische Kanäle, die jeweils nur Na^+ -Ionen oder K^+ -Ionen leiten können und einen entsprechenden Widerstand besitzen. Abbildung 6.2 veranschaulicht diese Situation.

In dem Ersatzschaltbild der Membran, bekommt letztere zunächst eine konstante Kapazität C und einen konstanten Widerstand R_L zugeordnet, der ein Maß für die Leckströme über die Membran sind. Weiterhin werden die Ionenkanäle durch veränderliche Widerstände R_{Na} und R_K dargestellt. Über jeden dieser Widerstände fällt das entsprechende Membranpotential $E_{L/Na/K}$ ab, dass durch die verschiedenen Ionengradienten oder Leckströme definiert ist. Die Ionengradienten selbst wurden zuvor durch entsprechende Ionenpumpen in der Membran hergestellt, so dass sich ein Ruhemembranpotential E_r einstellt. Die Idee ist nun, dass durch äußere Spannungen ausgelöst, die Ionenkanäle öffnen, die Ionengradienten sich ausgleichen und sich so das gesamte Membranpotential E ändert. Dies ist wiederum im Experiment als elektrisches Signal am Nerven messbar.

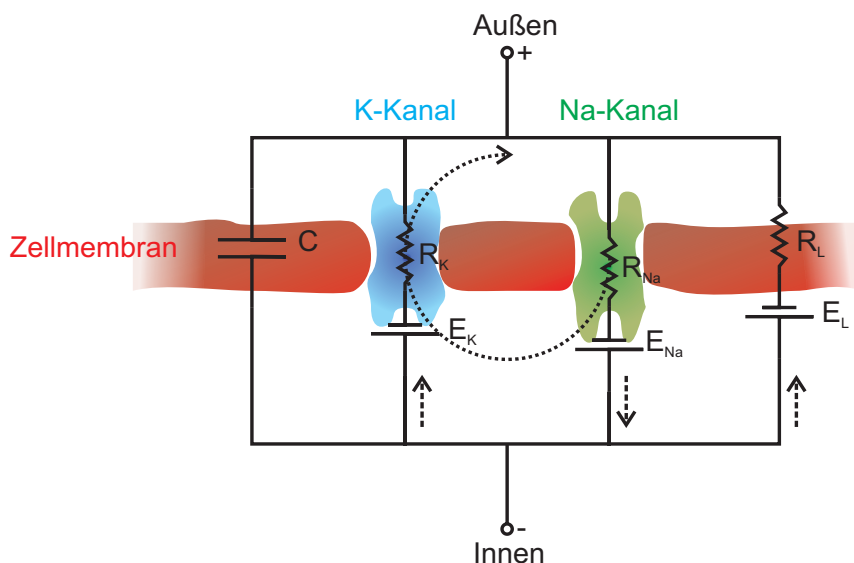


Abbildung 6.2.: Das elektronische Ersatzschaltbild das Hodgkin und Huxley dazu verwendeten ihre Nervenreizleitungstheorie zu formulieren. Die Membran selbst besitzt einen Widerstand R_L und die Kapazität C . Daneben sind die Widerstände von Na -Ionenkanälen R_{Na} und die von K -Ionenkanälen R_K mitberücksichtigt. Über jeden Widerstand fällt das entsprechende Membranpotential $E_{L/Na/K}$ ab.

Um den Ausgleich der Ionengradienten zu beschreiben, wird der gesamte Membran-

strom I in seine Ionen bzw. Ionspezifischen Anteile $I_{L/Na/K}$ zerlegt, die wiederum durch die jeweiligen Potentiale und Widerstände ausgedrückt werden.

$$I = C \frac{\partial V}{\partial t} + I_{Na} + I_K + I_L = C \frac{\partial V}{\partial t} + g_{Na}(V - V_{Na}) + g_K(V - V_K) + g_L(V - V_L) \quad (6.4)$$

Wobei in dieser Gleichung $g_{L/Na/K} = \frac{1}{R_{L/Na/K}}$, $V = (E - E_r)$ und $V_{L/Na/K} = (E_{L/Na/K} - E_r)$. In der Darstellung von Hodgkin und Huxley folgen nun eine Reihe von Annahmen für die g_{Na} und g_K bezüglich derer Spannungs- und Zeitabhängigkeiten und die dementsprechende Einführung von Parametern. Das Ergebnis ist ein Satz von Gleichungen und Parametern mit Hilfe derer der Gesamtstrom I durch die Membran beschrieben werden kann. Der gesamte Membranstrom I bekommt dabei folgende Form.

$$I = C \frac{\partial V}{\partial t} + \bar{g}_{Na} m^3 h (V - V_{Na}) + \bar{g}_K n^4 (V - V_K) + g_L (V - V_L) \quad (6.5)$$

Wobei folgende Gleichungen außerdem erfüllt sein müssen.

$$\begin{aligned} \frac{dn}{dt} &= \alpha_n(1 - n) - \beta_n n \\ \frac{dm}{dt} &= \alpha_m(1 - m) - \beta_m m \\ \frac{dh}{dt} &= \alpha_h(1 - h) - \beta_h h \end{aligned} \quad (6.6)$$

Für die Vorfaktoren $\alpha_{n/m/h}$ und $\beta_{n/m/h}$ gilt zudem:

$$\begin{aligned} \alpha_n &= \frac{0,01(V + 10)}{e^{\frac{V+10}{10}} - 1} \\ \beta_n &= 0,125 e^{\frac{V}{80}} \\ \alpha_m &= \frac{0,1(V + 25)}{e^{\frac{V+25}{10}} - 1} \\ \beta_m &= 4 e^{\frac{V}{18}} \\ \alpha_h &= 0,07 e^{\frac{V}{20}} \\ \beta_h &= \frac{1}{e^{\frac{V+30}{10}} + 1} \end{aligned} \quad (6.7)$$

Für die Parameter in Gleichungen 6.7 benutzten Hodgkin und Huxley Fits an experimentell an Nerven ermittelten Ionenströmen und deren Spannungs- und Zeitabhängigkeit. Dieses Vorgehen zeigt, was Hodgkin und Huxley erreichen wollten: eine phänomenologische Beschreibung der elektrischen Erscheinung der Nervenreizleitung. In [8] betonen sie dies selbst, als sie versuchen eine physikalische Interpretation zu geben: „For the sake of illustration we shall try to provide a physical basis for the equations, but must emphasize that the interpretation given is unlikely to provide

a correct picture of the membrane.“ Beispielsweise begründeten sie den Faktor n^4 in Gleichung 6.5 damit, dass durchschnittlich vier K^+ -Ionen an eine bestimmte Region der Membran (den Ionenkanal) gelangen müssen um diesen zu aktivieren und durch die Membran geleitet zu werden [8].

Mit der Beschreibung des Membranstroms I ergibt sich noch keine Gleichung, die das elektrische Signal entlang der Nervenmembran propagieren würde. Eine weitere Annahme wird für die Propagation nötig. Der Membranstrom I soll sich ringförmig schließen, wie es in Abbildung 6.2 angedeutet ist und sich deshalb fortpflanzen. Dieser Kreisstrom soll durch das Plasma des Inneren des Nervenaxons laufen und wird von Hodgkin und Huxley durch $I = \frac{a}{2R} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2}$ ausgedrückt, wobei a der Radius des Axons und R der spezifische Widerstand des Axonplasmas ist. Da es nun irrelevant ist, ob man einen Nervenreiz an verschiedenen Stellen x oder zu verschiedenen Zeiten t betrachtet wird der Kreisstrom weiter umgeformt zu $I = \frac{a}{2Rc^2} \frac{\partial^2 V}{\partial t^2}$, wobei c die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Nervenreizes ist. Dieser Kreisstrom muss sich auch durch die Membran bewegen wie es oben beschrieben wird, so dass sich die Gleichung der Nervenreizausbreitung nach Hodgkin und Huxley ergibt.

$$\frac{a}{2Rc^2} \frac{\partial^2 V}{\partial t^2} = C \frac{\partial V}{\partial t} + \bar{g}_{Na} m^3 h (V - V_{Na}) + \bar{g}_K n^4 (V - V_K) + g_L (V - V_L) \quad (6.8)$$

Diese Gleichung wurde in [8] anschließend numerisch behandelt, so dass Kurvenverläufe von Nervenreizen in der Zeit, sogenannte Aktionspotentiale, mit den tatsächlichen Messungen auf Nerven verglichen werden konnten. Darauf soll hier nicht weiter eingegangen werden. Wichtige Annahmen der Theorie nach Hodgkin und Huxley sollen aber nochmals kurz zusammengefasst werden:

- *Membranströme:* Eine Vielzahl an Parametern und Gleichungsstrukturen (Gleichungen 6.6 und 6.7) wurden durch Fit an experimentelle Messungen bestimmt. Der physikalische Hintergrund für das angenommene Verhalten wird von Hodgkin und Huxley nur in einem Bild vorgeschlagen. Markant sind für alle Parameter der Leitfähigkeiten, die mit Hilfe der $\alpha_{Na/K}$ und $\beta_{Na/K}$ beschrieben werden, dass sie stets in exponentieller Form von der Membranspannungsänderung V abhängen.
- *Kreisströme:* Damit sich die Membranströme ausbreiten können, wird angenommen, dass sich diese in Form von Kreisströmen über die Membran und durch das Plasma der Nervenaxone schließen. Erst so entsteht, ein sich ausbreitendes elektrisches Signal.

Unter Abwandlung der ersten Annahme und der Verwendung des Prinzips der Wellenausbreitung auf Nervenmembranen an Stelle der zweiten Annahme, soll im Fol-

genden eine einfache physikalische Verknüpfung von Membranströmen, dem Membranpotential und dem Membrandruck vorgestellt werden.

6.4. Modifikation der Theorie nach Hodgkin und Huxley

Die grundlegende Idee für die folgenden Darstellungen soll stets die eines propagierenden Wellenphänomens (Druckpulses), als physikalische Interpretation des sich ausbreitenden Nervenreizes sein. Damit kann zunächst die Annahme der sich schließenden Kreisströme fallen gelassen werden. Sie ist für die Propagation des Nerven-signales nicht mehr notwendig, da dieses im Bild eines Wellenphänomens ohnehin propagiert.

Darüber hinaus sollen die Ströme durch die Membran auf Grund von Ionenkanälen oder Leckströmen stark vereinfacht dargestellt werden. Die komplizierten Funktionen in n , m und h , die in Gleichungen 6.5, 6.6 und 6.7 auftreten und im wesentlichen die Leitfähigkeit der Membran widerspiegeln, werden durch folgende einfachere Annahmen ersetzt.

- Die Leitfähigkeiten der Ionenkanäle bzw. Nervenmembran sollen in einfacher Weise exponentiell ($Ke^{L\pi}$) vom Oberflächendruck der Nervenzellmembran abhängen. Zum einen ist bekannt, dass viele Proteine bzw. Ionenkanäle ohnehin durch den Membrandruck gesteuerte Konformations- und Leitfähigkeitsänderungen durchlaufen können und die Anzahl der veränderten Proteine bzw. Ionenkanäle dabei exponentiell vom Membranruck abhängt [114]. Zum anderen sind die Annahmen zu den Ionenkanälen in der Theorie nach Hodgkin und Huxley stets so, dass die Leitfähigkeit in irgendeiner Weise exponentiell von der Spannung V abhängt, wobei die Messungen des Oberflächenpotentials Ψ (vgl. Abschnitt 5.5.4) zeigen, dass V wiederum selbst vom Druck π der Membran bestimmt ist.
- Die Ionenkanäle sollen zur weiteren Vereinfachung als ionenunspezifisch angenommen werden, so dass die Ionenkanalleitfähigkeit in einem Term $g_I = Ke^{L\pi}$ zusammengefasst werden kann.
- Die Ionenpumpen stellen wie zuvor einen Ionengradienten, bzw. ein Ruhepotential V_r her. Der Einfluss der Leckströme auf den Ionengradienten soll zur Vereinfachung als eine Verringerung des Ruhepotentials mitberücksichtigt sein.
- Für das, sich im Gleichgewicht befindliche, Ruhepotential soll der Strom der

Ionenpumpen I_P die Ströme durch die Ionenkanäle bzw. Nervenmembran genau kompensieren.

- Die Kapazität C der Membran muss nicht konstant sein und kann sich entsprechend der Potentialänderung V (vom Ruhepotential V_r) ändern. Damit muss ein zusätzlicher Membranstrom $V \frac{\partial C}{\partial t}$ berücksichtigt werden (als Ergebnis der Ableitung der Ladung $\frac{\partial Q}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial t}(CV) = V \frac{\partial C}{\partial t} + C \frac{\partial V}{\partial t}$).

Es sei noch erwähnt, dass das Potential V im Allgemeinen auch direkt vom Oberflächenpotential Ψ und damit π der Membran abhängt. Nach Abschnitt 5.6.1 liegt diese Abhängigkeit aber im $0,1mV$ -Bereich und die betrachteten Potentialänderungen eines Aktionspotentials im $10mV$ -Bereich [8], so dass diese Abhängigkeit hier vernachlässigt werden soll. Unter diesen Annahmen verändert sich Gleichung 6.4 der Theorie nach Hodgkin und Huxley zu folgender Gleichung.

$$I_P = V \frac{\partial C}{\partial t} + C \frac{\partial V}{\partial t} + K e^{L\pi} (V - V_r) \quad (6.9)$$

Befindet sich das System im Gleichgewicht, bedeutet obige Gleichung, dass sich je nach Oberflächendruck π ein gewisses V einstellen wird. Zum Einstellen dieses Gleichgewichts werden Ströme fließen. Dies wird im Vergleich zur akustischen, wellenartigen Ausbreitung in der Membran sehr schnell stattfinden und soll im Gegensatz zur Theorie nach Hodgkin und Huxley hier keine spezifische Zeitabhängigkeit besitzen. Deshalb genügt es Gleichung 6.9 nur für den Gleichgewichtsfall zu betrachten, so dass die Terme $V \frac{\partial C}{\partial t} + C \frac{\partial V}{\partial t}$ verschwinden, da sie nur, für ein sich mit der Zeit veränderndes System, Einfluss nehmen. Darüber hinaus ist es ausreichend, nur die Änderungen π' des Oberflächendrucks $\pi = \pi_0 + \pi'$ zu betrachten, da Anteile von π_0 in der Konstante K in Gleichung 6.9 mitzusammengefasst werden können. Damit ergeben sich folgende einfache Beziehung für den Strom der Ionenpumpen I_P (für $V = 0$, $\pi' = 0$) und die sich ergebende Potentialänderung V bei einer Druckänderung um π' .

$$\begin{aligned} I_P &= -KV_r \\ V &= \frac{I_P}{K e^{L\pi'}} + V_r = V_r(1 - e^{-L\pi'}) \\ &\stackrel{1. \text{Ordnung}}{\approx} V_r L \pi' \end{aligned} \quad (6.10)$$

In Gleichung 6.10 ist das Ruhepotential V_r für Nervenzellen bekannt ($V_r \approx -70mV$ [113]) und es bleibt nur L als unbekannter Parameter, der die Oberflächendruckänderung π' mit der Leitfähigkeit der Ionenkanäle bzw. Nervenmembran verbindet. L kann im nächsten Abschnitt mit Hilfe der Theorie nach Hodgkin und Huxley abgeschätzt werden. Die Näherung 1. Ordnung aus Gleichung 6.10 wird im Folgenden in der Wellengleichung 6.3 benutzt.

6.5. Vereinigung der Modifikation mit der Wellenausbreitung auf Membranen

Führt man die Näherung 1. Ordnung in Form von $V \approx V_r L \pi'$ (vgl. Gleichung 6.10) in die Wellengleichung 6.3 ein, ergibt sich folgende Differentialgleichung.

$$-\kappa_S \rho_0 \frac{\partial^2 \pi'}{\partial t^2} + \frac{\partial^2 \pi'}{\partial x^2} - \kappa_S e^{i\frac{\pi}{4}} \sqrt{\omega \rho_w \eta_w} \frac{\partial \pi'}{\partial t} + \chi V_r L \frac{\partial^2 \pi'}{\partial x^2} = 0 \quad (6.11)$$

Mit dem Wellen-Ansatz $\pi' = A e^{i(\omega t - kx)}$ lässt sich die Dispersionsrelation für den Wellenvektor k in Abhängigkeit von der Frequenz ω bestimmen. Das Auflösen nach dem komplexen k (und die Bestimmung von $\Im(k)$ und $\Re(k)$) wird wieder mit Hilfe der mathematischen Software *Maple* durchgeführt, wobei nur die Lösungen für k die in positive x -Richtung propagieren, weiter betrachtet werden sollen.

$$0 = \kappa_S \rho_0 \omega^2 - k^2 - i \kappa_S e^{i\frac{\pi}{4}} \sqrt{\rho_w \eta_w} \omega^{\frac{3}{2}} - \chi V_r L k^2$$

$$\Rightarrow k = \frac{\sqrt{(1 + \chi V_r L)(1 + i) \kappa_S (\rho_0 \omega^2 + i \rho_0 \omega^2 + \sqrt{2 \rho_w \eta_w} \omega^{\frac{3}{2}})}}{(1 + \chi V_r L)(1 + i)} \quad (6.12)$$

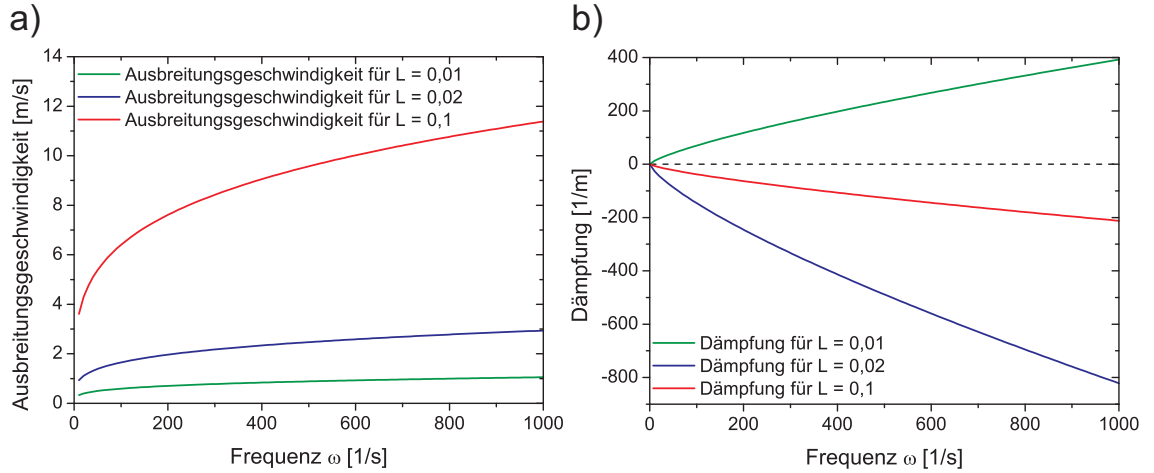


Abbildung 6.3.: a) Ausbreitungsgeschwindigkeiten $c = \frac{\omega}{\Re(k)}$ nach der Dispersionsrelation aus Gleichung 6.12. b) Dämpfung $\beta = -\Im(k)$ nach der Dispersionsrelation aus Gleichung 6.12. Für alle Kurven werden folgende Experimenten entsprechende Parameter verwendet: $\kappa_S \approx 10 \frac{m}{N}$, $\rho_0 \approx 1 \cdot 10^{-6} \frac{kg}{m^2}$, $\rho_w \approx 1000 \frac{kg}{m^3}$, $\eta_w \approx 1 \cdot 10^{-3} Pas$, $V_r = -70 mV$, $\chi \approx 1 \frac{mN}{mV}$ und $L = 0,01/0,02/0,1 \frac{m}{mN}$.

Wieder sind durch die Beziehungen $\beta = -\Im(k)$ und $c = \frac{\omega}{\Re(k)}$ die Dämpfung β und die Ausbreitungsgeschwindigkeit c der Wellenlösungen von Gleichung 6.11 gegeben. Für den vorliegenden Fall der Nervenreizleitung erweist sich vor allem die Dämpfung als interessant, da sie möglichst gering sein sollte um, sich über weite Strecken

ausbreitende, Nervenreize zu ermöglichen. Um die entsprechenden Funktionen β und c plotten und analysieren zu können ist noch eine Abschätzung für L nötig. Diese soll grob mit Hilfe der Funktionen $\alpha_{n/m/h}$, bzw. $\beta_{n/m/h}$ aus den Gleichungen 6.7 der Theorie nach Hodgkin und Huxley geschehen. $\alpha_{n/m/h}$ und $\beta_{n/m/h}$ bestimmen die Abhängigkeit der Ionenkanalleitfähigkeit vom Potential V . Würde dieses V nur durch π' bestimmt, so wäre näherungsweise nach Abschnitt 5.6.1 $V \approx 1 \frac{mN}{mV} \pi'$. Beispielsweise gilt nun $\beta_n \propto e^{\frac{V}{80}} \approx e^{\frac{\pi'}{80}}$ für π' in $\frac{mN}{m}$. Damit wäre dementsprechend $L \approx \frac{1}{80} \frac{m}{mN} \approx 0,01 \frac{m}{mN}$. Da alle $\alpha_{n/m/h}$ und $\beta_{n/m/h}$ in höheren Potenzen (hoch 4 oder hoch 3) in die Leitfähigkeiten der Theorie nach Hodgkin und Huxley miteingehen, ist dieses $L \approx 0,01 \frac{m}{mN}$ eine untere Grenze, so dass $L > 0,01 \frac{m}{mN}$. Dementsprechend zeigt Abbildung 6.3 a) und b) die c - und β -Kurven für $L = 0,01/0,02/0,1 \frac{m}{mN}$.

Für den, für die Nervenreizleitung relevanten Bereich von ω zwischen $100 \frac{1}{s}$ und $1000 \frac{1}{s}$, wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit c im Vergleich zu Wellen nach Kapitel 5 ($\approx 1 \frac{m}{s}$), größer und rückt damit je nach L weiter in den natürlichen Bereich der Nervenreizleitung von $1 - 5 \frac{m}{s}$ [16]. Die Dämpfung β zeigt abhängig von L ein weit außergewöhnlicheres Verhalten. Ab einem gewissen Wert von $L \approx 0,014$ werden plötzlich negative Dämpfungen erzeugt. So ergibt sich für $L \approx 0,02 \frac{m}{mN}$ eine negative Dämpfung, die impliziert, dass sich entsprechende Wellen über sehr weite Strecken ausbreiten können. Dies lässt sich auf den zusätzlich durch die Ionengradienten implizierten Druckgradienten auf die Membran erklären, die aus dem zuvor stark gedämpften System, ein durch den Ionengradienten zusätzlich getriebenes System machen. Die negative Dämpfung β weiter theoretisch zu interpretieren, ist nicht sinnvoll, da Näherungen (V in 1. Ordnung) durchgeführt wurden, die aus einem komplexen, nichtlinearen Gleichungssystem, das lösbare Gleichungssystem 6.11 machen. In einem natürlichen System wird ein negatives β vermutlich dazu führen, dass sich die Wellen bis zu einer gewissen Amplitude verstärken, bis die dadurch zusätzlich entstehenden Reibungseffekte oder Begrenzungen durch den Ionengradienten und die Nervenzelle, das weitere Anschwellen der Amplitude verhindern.

Gleichung 6.11 und die daraus folgende Abbildung 6.3 a) und b) zeigen, dass durch den zusätzlichen Ionengradienten, der von der Nervenzelle aufgebaut wird, ein getriebenes System entstehen kann, dass eine Propagation von Signalen ohne Abnahme der Signalstärke erlaubt. Würde man die exaktere Gleichung für $V = V_r(1 - e^{-L\pi'})$ benutzen, ergäbe sich statt Gleichung 6.11, eine, wie bereits erwähnt, nichtlineare Differentialgleichung, die von der Amplitude der angeregten Wellen abhängig unterschiedliche Ergebnisse liefern kann. Deshalb soll kurz eine grobe Erwartung formuliert werden, wie sich die nichtlineare Gleichung in Abhängigkeit der Anregungsamplituden verhält. Es lässt sich vermuten, dass erst wenn die zu Beginn angeregte

Amplitude (bestimmt durch die Randbedingung zum Zeitpunkt $t = 0$) groß genug ist um den Term $\chi \frac{\partial^2 V}{\partial x^2}$ über einen gewissen Schwellenwert zu heben (wie er durch die L -Abhängigkeit in Abbildung 6.3 impliziert wird), eine ungedämpfte Ausbreitung der Anregung möglich wird. Dies entspräche dem „All-Or-Nothing“-Übergang von Nerven, der beschreibt, wie ein Nerv erst dann anregbar ist, wenn ein gewisses Mindestpotential bei der Anregung überschritten wird. Dieses Verhalten bleibt aber, ohne numerische Lösung des nicht linearen Gleichungssystems, eine Vermutung.

Auf alle Details dieser einfachen Wellentheorie der Nervenreizausbreitung soll hier nicht eingegangen werden. Es zeigt sich aber, dass sowohl elektrische, als auch mechanische und thermische Details der Nervenausbreitung konsistent erklärt werden könnten. Die messbaren Ionengradienten und Ionenflüsse nehmen, wie in der Theorie nach Hodgkin und Huxley, wesentlichen Anteil am elektrischen Signal des Nervenreizes. Zusätzlich erzeugt die parallel und für die Ausbreitung verantwortliche, akustische Welle die mechanisch meßbaren Veränderungen am Nervenaxon [10]. Gleichzeitig werden aber auch die thermischen Veränderungen [10], entsprechend dem Ansteigen und Absinken der Temperatur während eines Nervenreizes, durch eine propagierende Druckwelle mit impliziert (vgl. Gleichung 4.9). Vorteil dieser Wellentheorie der Nervenreizausbreitung ist es zudem, dass die Vielzahl an Annahmen und Experimenten über Eigenschaften von Ionenkanälen oder Rezeptoren am Nerven, die im Zuge der Theorie nach Hodgkin und Huxley entstanden sind, bestehen bleiben können, da letztere Theorie direkter Bestandteil (hier in vereinfachter Form) der vorgestellten Wellentheorie ist.

Kapitel 7: Zusammenfassung und Ausblick

Ein strukturierender Hauptbestandteil einer jeden lebenden Zelle sind die Lipidmembranen. Durch ihre wässrigen Grenzflächen separieren sie die Zelle von ihrem Äußeren und unterteilen sie in ihrem Inneren. Schon alleine deshalb ist auch die Dynamik dieser Membrangrenzflächen von direktem biologischem Interesse. Da Lipid-Monolayer einfachen Zugang zu den physikalischen Eigenschaften dieser Grenzflächen geben, wurden sie in dieser Arbeit dazu benutzt, die Dynamik von Lipidmembranen zu untersuchen. Zunächst wurde deshalb ein erweitertes, dynamisches Monte-Carlo-Simulations-Modell aufgebaut, das aufzeigte, dass sowohl Dynamik als auch Thermodynamik von Lipidmembranen Einfluss auf messbare makroskopische Größen nehmen können. Das Kernthema dieser Arbeit sollte aber die Relevanz von dynamischen Wellenphänomenen im Bezug auf die Nervenreizleitung sein. So wurde auf experimenteller Seite insbesondere die Ausbreitung von Wellen und Pulsen auf Monolayern betrachtet. Die Ergebnisse zeigten, dass Störungen auf Lipid-Monolayern elektrisch oder chemisch angeregt werden können. Auf chemischem Weg erzeugte Monolayerpulse breiteten sich über makroskopische Distanzen mit Geschwindigkeiten von $0,1 - 2 \frac{\text{m}}{\text{s}}$ aus und veränderten dabei sowohl mechanische als auch elektrische Eigenschaften des Monolayers. Sowohl Theorie, als auch Bedeutung dieser Phänomene wurde in der vorliegenden Arbeit diskutiert und in einem abschließenden Kapitel in einer einfachen Theorie der Nervenreizleitung auf Grundlage von Wellenausbreitung vereint.

7.1. Dynamische Monte Carlo Simulation von Lipid-Monolayern

Um die Beschränkungen der bekannten, statischen Zwei-Zustands-Modelle zur Monte-Carlo-Simulation von Lipidmembranen [19] zu überwinden, wurde in Kapitel 3 eine dynamische Erweiterung letzterer Simulationen vorgestellt und implementiert. Diese beruht im wesentlichen darauf keine festen Ordnungen des Lipidgitters vorzusehen, sondern flexibel bewegliche Gitterplätze durch ein festes Federnetz (harmonische Potentiale) zu verbinden. Nach der energetischen Vervollständigung der

nötigen thermodynamischen Potentiale und der Fixierung aller nötigen Parameter an einzelnen Messungen, konnten auf diese Art und Weise experimentell gemessene Lipid-Monolayer-Isothermen auch in strukturellen Details reproduziert werden. Die Berechnung der experimentell schwer zugänglichen Wärmekapazität aus den Simulationen erlaubte zudem die Überprüfung von theoretisch und experimentell begründeten Vorhersagen der Proportionalität von Wärmekapazität und Kompressibilität eines Lipid-Monolayers [31]. Mit Hilfe des so getesteten und implementierten Simulationsmodells konnte anschließend ein Experiment (von J. Neumann und M. Hennig [23, 22]), in dem Lipid-Bilayer periodisch angeregt wurden und so ein unter dem Fluoreszenzmikroskop beobachtbares Muster erzeugten, reproduziert werden. Das berechnete Muster (e^{\sin^2}) entsprach exakt den experimentellen Erwartungen.

Auf Grund des vergleichsweise einfachen Modells des vorgestellten Simulations-Typs und dessen geringen Bedarfs an Rechenleistung (alle Berechnungen wurden an einem handelsüblichen Heimrechner durchgeführt), bieten sich eine Vielzahl von Erweiterungen an. So könnten Strukturen wie Vesikel oder Zylinder sehr leicht umgesetzt werden und, wie die praktische Anwendung bereits demonstrierte, auf den Einfluss von dynamischen Anregungen hin analysiert werden (als Analogie zu mit Ultraschall angeregten Vesikellösungen [15]). Daneben könnte der Einfluss von geladenen Lipiden, durch zusätzliche Coulombsche Kräfte, untersucht werden und so der Ladungs- (respektive pH-) Einfluss auf Monolayer-Isothermen untersucht werden (vgl. experimentelle Untersuchungen [104, 101]). In einer umfassenden Erweiterung könnten auch Strömungen in den Lipid-Membranen simuliert und untersucht werden. Dies gelänge durch ein Wechselwirkungsschema, bei dem die Lipide nicht über ein festes Federnetz miteinander verknüpft sind, sondern nur Federwechselwirkungen mit ihren jeweiligen, momentan nächsten Nachbarn eingehen. So wären die physikalische Diffusion in den Lipidmembranen und die Einflüsse der Strömung auf den Phasen-zustand der Lipide ergründbar.

7.2. Elektrische Anregung von Lipid-Monolayern

Die in Kapitel 4 vorgestellte, elektrische Anregung von Wellenphänomenen auf Lipid-Monolayern, beruht auf der Kopplung eines periodischen (IDT), elektrischen Wechselfeldes an die Ladungen und Dipole der Lipide. Die angeregten Wellenphänomene auf den Lipid-Monolayern, erzeugten rapide Oberflächendruckänderungen bei bestimmten Frequenzen f_k , die unter Verwendung der durch die Periodizität (IDT) vorgegebenen Wellenlänge λ , mit einer Ausbreitungsgeschwindigkeit $c = \lambda f_k$ verknüpft werden konnten. Der Vergleich dieser Geschwindigkeiten mit den theoretisch für eine rein akustische Welle erwarteten ($c = \sqrt{\frac{1}{\rho_0 \kappa_S}}$) zeigte ohne jeden Fitting-

Parameter gute Übereinstimmung. Die theoretische Betrachtung deutete auf eine geringe Dämpfung dieser Wellenphänomene hin. In der anschließenden Deutung wurde vorgeschlagen, dass es, durch das elektrische Wechselfeld mit seinen hohen Frequenzen (MHz) und damit Energien, zur Anregung eines akustischen Wellenphänomens kommt, das schlußendlich zum „Reißen“ oder „Kollabieren“ der Lipid-Monolayer führt. Dies wurde dann als rapide Oberflächendruckänderung bei bestimmten Frequenzen f_k registriert.

Zukünftige Fluoreszenz- oder BAM(*Brewster-Winkel*)-Mikroskopaufnahmen in der Nähe der Anregung, könnten weiter Aufschluss über ein etwaiges „Kollabieren“ oder „Reißen“ der Lipid-Monolayer geben. Daneben könnte die Periodizität vergrößert und so die nötigen Frequenzen f_k verringert werden, was auf Grund der geringeren Energien das vermutete „Reißen“ verhindern könnte. Eine erhebliche Verkleinerung der Periodizität könnte unterdessen auch interessante Ergebnisse liefern, da eine starke Erhöhung der Anregungsfrequenz (GHz), den viskos beeinflussten Teil der Wassersubphase des Lipid-Monolayers stark verkleinern würde, bis schließlich nur noch das Wasser an der direkten Grenzfläche zu Lipid oder zu Luft beeinflusst würde. So könnten sich Rückschlüsse auf die Wasserstruktur an Grenzflächen und die Einflüsse durch Lipid-Monolayer ergeben. Unabhängig davon ist ein weiteres Anwendungsgebiet der entwickelten Anregungstechnik der Einfluss von Radio- oder Hochfrequenz-Strahlung auf Lipid-Monolayer und die Beeinflussung natürlicher Organismen durch Strahlung. Die Experimente hier zeigten bereits, dass es zu Veränderungen der Lipidmembranen kommen kann. In diesem Sinne liegen Untersuchungen des Einflusses von beispielsweise Röntgenstrahlung sehr nahe, der bislang nur wenig, bzw. zum Kenntnisstand in dieser Arbeit, nicht betrachtet worden ist.

7.3. Natürliche Anregung von Lipid-Monolayern

Kapitel 5 stellte eine natürlichere Art für die Pulserzeugung auf Lipid-Monolayern vor, die auf dem Aufbringen kleiner Tropfen verschiedener Substanzen (Lösungsmittel, Säuren) auf die Monolayer beruhte. So konnten Pulse mit Frequenzen im Hz -Bereich erzeugt werden, die sich mit Geschwindigkeiten im Bereich von $0,1 - 2 \frac{m}{s}$ ausbreiteten, was den theoretischen Erwartungen einer niederfrequenten Welle, die viskos an die Wassersubphase koppelt, entspricht. Bei der Anregung mit verschiedenen Lösungsmitteln (Ethanol, Methanol, Pentan, Chloroform) zeichnete sich insbesondere Ethanol durch kurze Pulslängen und hohe Pulshöhen und Pulsfrequenzen ($\approx 1Hz$) aus und wurde für detaillierte Analysen von Relaxationszeiten und der adiabatischen Kompressibilität der Monolayer verwendet. Die Verwendung von hochkonzentrierter Salzsäure erzeugte nur schwache Pulse und zeigte so, dass eine schlag-

artige Veränderung des pHs an den Monolayern nicht gut zur Anregung geeignet ist. Im direkten Bezug zu den Vorgängen im synaptischen Spalt von Nervenzellen wurde abschließend die Essigsäureanregung untersucht und zeigte eine ausgezeichnete Fähigkeit Druckpulse auf Monolayern zu erzeugen. Die Essigsäureanregung zeichnete sich durch eine scharfe pH-Abhängigkeit (um $\text{pH} \approx 2$), hohe Pulshöhen und hohe Pulsfrequenzen (bis zu $\approx 10\text{Hz}$) aus, sowohl bei der Anregung von reinen DPPC-Monolayern, als auch von natürlichen Lipid-Monolayern aus Schweinehirnlipidextrakt. Für letztere Druckpulse wurde außerdem experimentell die direkte Kopplung von Oberflächendruck- und Oberflächenpotentialveränderungen nachgewiesen und damit die direkte thermodynamische Kopplung verschiedener Monolayereigenschaften in einem dynamischen Vorgang gezeigt.

Für weitere Untersuchungen könnten beispielsweise Geruchsstoffe verwendet werden, von denen bekannt ist, dass sie sich in der Natur in den Lipidmembranen von Nervenzellen lösen und dadurch Nervensignale auslösen können, die dann im Gehirn verarbeitet werden [115]. Erste, im Rahmen dieser Arbeit gemachte, Versuche mit den reinen Gasphasen solcher Geruchsstoffe deuteten darauf hin, dass sich auf diese Art und Weise Druckpulse auf Lipid-Monolayern auslösen lassen. Als weitere Analogie zu den Sinnen, könnten zum Beispiel durch Licht ausgelöste Pulse auf Monolayern untersucht werden, die ähnlich bereits in [97] mit Hilfe eines lichtempfindlichen Polymers ausgelöst wurden. Dazu könnte die Verwendung von Lipiden oder Proteinen, die selbst bereits lichtsensitiv sind, dienen. Dementsprechend wäre eine optische oder elektrische Detektion von Monolayerpulsen relevant, die mit einfacher (Fluoreszenz- oder BAM-) Mikroskopie oder im Sinne der Umkehrung der elektrischen Anregung (IDTs) aus Kapitel 4 durchgeführt werden könnte.

7.4. Schlußfolgerungen für Wellenphänomene im Bezug zur Nervenreizleitung

Das wichtigste Ergebnis der Experimente dieser Arbeit ist, dass Lipid-Monolayer auf sehr einfache Art und Weise angeregt werden und die erzeugten Pulse tragen können. Dies impliziert die direkte Relevanz von Membransignalen in natürlichen Zellen. Eines dieser Signale wären Nervenreize, die im synaptischen Spalt vermutlich mit Druckpulsen auf der Membran verknüpft sind, wie es die Essigsäureanregung andeutet.

Deshalb wurde im abschließenden Kapitel 6 versucht eine einfache Wellentheorie der Nervenreizleitung zu entwickeln. Die Grundidee letzterer ist, dass jeder Ner-

venreiz nicht nur aus dem elektrischen Signal, das durch ein- und ausströmende Ionen erzeugt wird, besteht, sondern gleichzeitig ein propagierender Druckpuls, Teil des Reizes ist. Deshalb wurde die durch den Ionengradienten erzeugte Spannung über die Zellmembran (vgl. Theorie nach Hodgkin und Huxley [8]) direkt mit deren Oberflächendruck verknüpft und in die Gleichungen der Wellenausbreitung nach Kapitel 5 eingeführt. Die sich ergebenden Lösungen zeigten Wellen verschwindender Dämpfung, die, getrieben von der zusätzlichen Kraft des Ionengradienten, über weite Strecken, ähnlich zu Nervenpulsen, propagieren könnten.

Diese Wellentheorie der Nervenreizleitung zeigt, wie auf einfache Art und Weise elektrische, mechanische und thermische Phänomene der Nervenreizausbreitung in Einklang gebracht werden können. Dabei ist die Theorie nach Hodgkin und Huxley direkter Bestandteil der vorgestellten Wellentheorie und kann in Letztere in vereinfachter oder komplexer Form mit eingehen. Damit bleiben Gedanken, Ideen und Ergebnisse der Theorie nach Hodgkin und Huxley erhalten und stehen in keinem Widerspruch zur entwickelten Theorie. Darüber hinaus unterstützen die experimentellen Ergebnisse dieser Arbeit, durch ihre Einfachheit und Klarheit, diese Sichtweise auf Nervenreize und damit die vorgestellte Idee zur Wellentheorie der Nervenreizleitung.

Anhang A: Thermodynamische Beziehungen und Herleitung

A.1. Adiabatische Kompressibilität

Bei adiabatischen Prozessen gilt $dQ = 0$ und damit für reversible Prozesse, dass $dS = \frac{dQ}{T} = 0$. Die adiabatische Kompressibilität entspricht somit der Kompressibilität bei konstanter Entropie S , also $\kappa_S = \frac{1}{A} \left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_S$. Unabhängig davon sind die Änderungen der extensiven Variablen $S(\pi, T)$ und $A(\pi, T)$ [16] gegeben durch:

$$dA = \left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_T d\pi + \left(\frac{\partial A}{\partial T} \right)_\pi dT \quad (\text{A.1})$$

$$dS = \left(\frac{\partial S}{\partial \pi} \right)_T d\pi + \left(\frac{\partial S}{\partial T} \right)_\pi dT \quad (\text{A.2})$$

Für einen adiabatischen Prozess folgt $dS = 0$ und somit aus Gleichung A.2, dass $dT = - \left(\frac{\partial S}{\partial \pi} \right)_T / \left(\frac{\partial S}{\partial T} \right)_\pi d\pi$. Setzt man letztere Bedingung in Gleichung A.1 ein, ergibt sich nach Bilden der Ableitung nach π („Multiplikation“ mit $\frac{d}{d\pi}$) Folgendes.

$$\left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_S = \left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_T - \left(\frac{\partial A}{\partial T} \right)_\pi \frac{\left(\frac{\partial S}{\partial \pi} \right)_T}{\left(\frac{\partial S}{\partial T} \right)_\pi} \quad (\text{A.3})$$

Verwenden der Maxwell-Relation $\left(\frac{\partial S}{\partial \pi} \right)_T = - \left(\frac{\partial A}{\partial T} \right)_\pi$ und der Definition von c_π aus Gleichung 2.5 ergibt nach Multiplikation mit $\frac{1}{A}$ die zu Gleichung 2.9 äquivalente Gleichung:

$$\kappa_S = \kappa_T - \frac{T}{Ac_\pi} \left(\frac{\partial A}{\partial T} \right)_\pi^2 = \kappa_T - \frac{TA}{c_\pi} \alpha_\pi^2 \quad (\text{A.4})$$

A.2. Thermodynamische Kopplung von Membraneigenschaften

Folgende Herleitung orientiert sich an den Darstellungen in [29]. Über doppelt auftretende Indizes soll im Folgenden summiert werden (Einstein'sche Summenkonven-

tion). Zunächst sollen die Fluktuationen thermodynamischer Größen in Abhängigkeit der zweiten Ableitungen der Entropieänderung dargestellt werden. Seien x_i die *Abweichungen* der intensiven Größen von ihrem Mittelwert und $S - S_0 = \Delta S_g = -\frac{1}{2}\beta_{ik}x_ix_k$ mit $\beta_{ij} = \text{konst.} = -\frac{1}{k_B} \frac{\partial^2 \Delta S_g}{\partial x_i \partial x_j}$, wobei ΔS_g die gesamte, fluktuierende Entropieänderung des Systems sein soll. Für kleine Änderungen x_i lassen sich ihre konjugierten, extensiven Größen X_i folgendermaßen darstellen.

$$X_i = -\frac{\partial S}{\partial x_i} = -\frac{\partial \Delta S_g}{\partial x_i} = \beta_{ik}x_k \quad (\text{A.5})$$

Im folgenden werden die Mittelwerte $\langle x_ix_k \rangle$ und $\langle X_iX_k \rangle$, die die Fluktuationen des Systems charakterisieren, bestimmt. Die Wahrscheinlichkeit für den Zustand des Paares x_ix_k ist gegeben durch $\frac{\sqrt{\beta}}{(2\pi)^{n/2}} \exp(-\frac{1}{2}\beta_{ik}x_ix_k)$. Daraus lässt sich $\langle x_iX_k \rangle$ bestimmen, denn nach [29] gilt:

$$\langle x_iX_k \rangle = \frac{\sqrt{\beta}}{(2\pi)^{n/2}} \int \dots \int x_iX_k e^{(-\frac{1}{2}\beta_{ik}x_ix_k)} dx_1 \dots dx_n = \delta_{ik} \quad (\text{A.6})$$

Benutzt man Gleichung A.5 in obiger Gleichung A.6, so ergibt sich:

$$\langle x_ix_j \rangle = (\beta^{-1})_{ij} = -k_B \left(\frac{\partial^2 \Delta S_g}{\partial x_i \partial x_j} \right)^{-1} \quad (\text{A.7})$$

Ist das System im Gleichgewicht, so muss zur Auslenkung aus diesem, die entsprechende Entropieänderung ΔS_g durch eine Energieänderung des Systems erzeugt werden. Diese Energieänderungen des Systems sind z.B. $(\Delta H - T\Delta S + V\Delta p)$ oder $(\Delta H - T\Delta S + A\Delta\pi)$, die außerhalb des Gleichgewichts ungleich Null sind. Ein Steigen von $(\Delta H - T\Delta S + A\Delta\pi)$, verschiebt das System aus dem Gleichgewicht, also aus dem Entropiemaximum, muss also eine negative Entropieänderung erzeugen. Damit ergibt sich $\Delta S_g = -\frac{\partial \Delta S_g}{\partial H}(\Delta H - T\Delta S + A\Delta\pi)$ und da $T = \frac{\partial H}{\partial S} = \frac{\partial H}{\partial \Delta S_g}$ ergibt sich schließlich $\Delta S_g = -\frac{1}{T}(\Delta H(S, \pi) - T\Delta S(H, \pi) + A\Delta\pi(S, H))$, wobei $\Delta H(S, \pi)$, $\Delta S(H, \pi)$ und $\Delta\pi(S, H)$ Funktionen der Variablen S , H und π sind. Auf gleiche Weise lässt sich zeigen, dass $\Delta S_g = -\frac{1}{T}(\Delta F(T, A) + S\Delta T(F, A) + \pi\Delta A(F, T))$. Somit kann Gleichung A.7 erweitert werden:

$$\begin{aligned} \langle x_ix_j \rangle &= -k_B \left(\frac{\partial^2 \Delta S_g}{\partial x_i \partial x_j} \right)^{-1} = k_B T \left(\frac{\partial^2 (\Delta H(S, \pi) - T\Delta S(H, \pi) + A\Delta\pi(S, H))}{\partial x_i \partial x_j} \right)^{-1} \\ &= k_B T \left(\frac{\partial^2 (\Delta F(T, A) + S\Delta T(F, A) + \pi\Delta A(F, T))}{\partial x_i \partial x_j} \right)^{-1} \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

Für die Ableitungen der Veränderungen $\Delta R = \Delta F/\Delta H/\Delta S_g$ gilt: $\frac{\partial \Delta R}{\partial x_i} = \frac{\partial R}{\partial x_i}$. Für das betrachtete System kann nun das geeigneten Potential verwendet werden um $\langle x_ix_j \rangle$

entgültig zu bestimmen. Werden die Fluktuationen $x_{i/j} = \delta S$ der Entropie S betrachtet, so ergibt sich beispielsweise für isobare Prozesse ($\Delta\pi = 0$) unter Verwendung der Darstellung in H folgender Zusammenhang.

$$\left(\frac{\partial^2 (\Delta H(S, \pi) - T \Delta S(H, \pi) + A \Delta \pi(S, H))}{\partial S \partial S} \right) = \frac{\partial}{\partial S} \left(\frac{\partial H}{\partial S} \right)_\pi = \left(\frac{\partial T}{\partial S} \right)_\pi = \frac{T}{c_\pi} \quad (\text{A.9})$$

Auf die selbe Art und Weise lassen sich, nach Erweiterung der Potentiale um Ψdq , mit dem Oberflächenpotential Ψ und der Oberflächenladung q (siehe Gleichungen 2.2 - 2.4), für die Fluktuationen δA , δS und δq folgende Äquivalenzen zeigen:

$$\langle \delta A \delta A \rangle = k_B T A \kappa_T \quad (\text{A.10})$$

$$\langle \delta q \delta q \rangle = k_B T C_T \quad (\text{A.11})$$

$$\langle \delta S \delta S \rangle = k_B c_\pi \quad (\text{A.12})$$

$$\langle \delta A \delta S \rangle = k_B T A \alpha_\pi \quad (\text{A.13})$$

Um die Proportionalität der Gleichungen A.10 - A.13 zu beweisen werden nun die Clausius-Clayperon-Gleichungen betrachtet. Zusammen mit den experimentellen Ergebnissen für Monolayer, die zeigen, dass sich der Phasenübergangsdruck π_t oder das Phasenübergangspotential Ψ_t linear mit der Temperatur T verändern [42, 31], besagen diese:

$$\frac{\partial \pi_t}{\partial T} = \frac{\Delta S}{\Delta A} = \text{konst.} = B_\pi \Leftrightarrow \Delta S = B_\pi \Delta A \quad (\text{A.14})$$

$$\frac{\partial \Psi_t}{\partial T} = \frac{\Delta S}{\Delta q} = \text{konst.} = B_\Psi \Leftrightarrow \Delta S = B_\Psi \Delta q \quad (\text{A.15})$$

Es wird angenommen, dass diese linearen Zusammenhänge für den gesamten Phasenübergangsbereich und damit auch für kleine Fluktuationen gelten ($\Delta \approx \delta$). Da $\langle \text{konst.} x_i x_k \rangle = \text{konst.} \langle x_i x_k \rangle$, ergibt sich somit aus Gleichungen A.10 - A.13:

$$\Delta c_\pi \approx B_\pi^2 A T \Delta \kappa_T \quad (\text{A.16})$$

$$\Delta c_\pi \approx B_\pi A T \Delta \alpha_\pi \quad (\text{A.17})$$

$$\Delta c_\pi \approx B_\Psi^2 T \Delta C_T \quad (\text{A.18})$$

Woraus endlich die Proportionalitäten aus Gleichung 2.11 folgen:

$$\begin{aligned} \Delta c_\pi &\approx B_\pi^2 A T \Delta \kappa_T \approx B_\pi A T \Delta \alpha_\pi \approx B_\Psi^2 T \Delta C_T \\ \implies \Delta c_\pi &\propto \Delta \kappa_T \propto \Delta \alpha_\pi \propto \Delta C_T \end{aligned} \quad (\text{A.19})$$

Die Konstanten B_π und B_ψ können aus den Messungen der Verschiebung des Phasenübergangsdruckes mit der Temperatur ermittelt werden. Obwohl die exakten Werte je nach Lipidtyp oder Lipidmischung unterschiedlich ausfallen ($\approx \pm 20\%$), können Richtwerte mit $B_\pi = 4,1 \cdot 10^{-3} \frac{N}{mK}$ [14] und $B_\psi = 20 \cdot 10^{-3} \frac{V}{K}$ [116, 31] angegeben werden [116, 31]. Damit ist eine gegenseitige Abschätzung von Größen nach Gleichung A.19 möglich.

A.3. Oberflächenspannungsmessung mit einer Kelvinsonde

Einige technische Details zur Kelvinsonden-Technik sind in [117] und [118] dargestellt. Folgende Herleitung richtet sich nach [119], entsprechend dem als Kelvinsonde in dieser Arbeit verwendeten Gerätes (*TREK Inc., Model 325*).

Ausgangspunkt sei Abbildung 2.6. Durch das Vibrieren der Elektrode mit der Frequenz ω und der Amplitude ΔD gegenüber dem Potential U zum Monolayer entsteht ein Strom I . Ist $C = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r A}{D_0 + \Delta D \sin(\omega t)}$ die mit ω variierende Kapazität des Kondensators (der Fläche A) zwischen vibrierender Elektrode und Referenzelektrode, so ist I gegeben durch:

$$I = U \frac{dC}{dt} = -U \epsilon_0 \epsilon_r A \frac{\Delta D \omega \cos(\omega t)}{(D_0 + \Delta D \sin(\omega t))^2} = -UC \frac{\Delta D \omega \cos(\omega t)}{D_0 + \Delta D \sin(\omega t)} \quad (A.20)$$

Dieser Strom soll nun durch eine zusätzliche Spannung $U_t = U_{t0} \sin(\omega t)$ an der vibrierenden Elektrode, die einen Strom $I' = C \frac{dU_t}{dt}$ erzeugt kompensiert werden. D.h. $|I| = |I'|$ und damit:

$$\begin{aligned} CU_{t0} \omega \cos(\omega t) &= UC \frac{\Delta D \omega \cos(\omega t)}{D_0 + \Delta D \sin(\omega t)} \\ \Leftrightarrow \frac{U_{t0}}{U} &= \frac{\Delta D}{D_0 + \Delta D \sin(\omega t)} \quad \text{für } \frac{\Delta D}{D_0} \ll 1 \text{ konst.} \end{aligned} \quad (A.21)$$

Misst man ΔU_{t0} für einen bekannten Potentialsprung ΔU (zum Beispiel mit Hilfe eine Batterie), kann die Konstante in Gleichung A.21 bestimmt werden. Somit lässt sich im Anschluss jede Veränderung von U und damit des Oberflächenpotentials des Lipid-Monolayers bestimmen.

A.4. Bestimmung der Gibbs freien Energie für das einfache Simulations-Modell

Für das in Abschnitt 3.2.1 beschriebene Modell sind zur Bestimmung der Gibbs freien Energie G folgende Parameter des hexagonalen Systems bekannt.

A.4. Bestimmung der Gibbs freien Energie für das einfache Simulations-Modell

- Insgesamt sind n Lipide im System
- Es sind n_g geordnete Lipide mit freier Enthalpie H_g und Entropie S_g im System
- Es sind $n_f = n - n_g$ ungeordnete Lipide mit freier Enthalpie H_f und Entropie S_f im System
- Es bestehen n_{gg} geordnet-geordnet Kontakte, n_{ff} ungeordnet-ungeordnet Kontakte und n_{fg} ungeordnet-geordnet Kontakte
- Die Wechselwirkungsenergien sind gegeben durch ϵ_{gg} für geordnet-geordnet, ϵ_{ff} für ungeordnet-ungeordnet und ϵ_{fg} für ungeordnet-geordnet Kontakte. Es gibt nur Nächste-Nachbar-Wechselwirkungen.

Folgende einfache Beziehungen ergeben sich so:

- Die Gibbs freie Energie eines komplett geordneten Systems ist gegeben durch $G_g = n(H_g - TS_g + 3\epsilon_{gg})$. Dabei ergibt sich $3\epsilon_{gg}$ aus der Tatsache, dass sich je zwei Lipide eine Wechselwirkung teilen und jedes Lipid in einem hexagonalen Modell sechs nächste Nachbarn hat.
- $n_{gg} = 3n_g - n_{gf}/2$ und $n_{ff} = 3n_f - n_{gf}/2$. Erstere Beziehung lässt sich beispielsweise dadurch erklären, dass die maximale Anzahl von geordnet-geordnet Kontakten durch $3n_g$ gegeben ist. Sind nun einige Lipide ungeordnet muss davon, da sich zwei Lipide eine Wechselwirkung teilen, die Hälfte der ungeordnet-geordnet Kontakte $n_{gf}/2$ subtrahiert werden um die tatsächliche Anzahl n_{gg} zu erhalten. Gleiches gilt umgekehrt auch für n_{ff} .

Für ein beliebiges System ist G somit durch folgende Beziehung gegeben.

$$\begin{aligned}
 G &= n_g(H_g - TS_g) + n_f(H_f - TS_f) + n_{gg}\epsilon_{gg} + n_{ff}\epsilon_{ff} + n_{gf}\epsilon_{gf} \\
 &= n_g(H_g - TS_g) + n_f(H_f - TS_f) + (3n_g - n_{gf}/2)\epsilon_{gg} + (3n_f - n_{gf}/2)\epsilon_{ff} + n_{gf}\epsilon_{gf} \\
 &= n(H_g - TS_g) + n_f((H_f - TS_f) - (H_g - TS_g)) + 3n\epsilon_{gg} - 3n_f\epsilon_{gg} + 3n_f\epsilon_{ff} \\
 &\quad + n_{gf}\left(\epsilon_{fg} - \frac{\epsilon_{gg} + \epsilon_{ff}}{2}\right) \\
 &= n(H_g - TS_g + 3\epsilon_{gg}) + n_f((H_f - TS_f + 3\epsilon_{ff}) - (H_g - TS_g + 3\epsilon_{gg})) \\
 &\quad + n_{gf}\left(\epsilon_{fg} - \frac{\epsilon_{gg} + \epsilon_{ff}}{2}\right) \\
 &= G_g + n_f(\Delta H - T\Delta S) + n_{gf}\omega_{gf}
 \end{aligned} \tag{A.22}$$

Wobei $\Delta H = (H_f + 3n_f\epsilon_{ff}) - (H_g + 3n_g\epsilon_{gg})$, $\Delta S = S_f - S_g$ und $\omega_{gf} = \epsilon_{fg} - \frac{\epsilon_{gg} + \epsilon_{ff}}{2}$.

A.5. Berechnung der Ableitung des statistischen Mittelwertes der freien Enthalpie H

Zunächst wird zur Veranschaulichung die Ableitung von $Z = \sum_j e^{-G_j/k_B T}$ in $\langle H \rangle = \frac{1}{Z} \sum_i H_i e^{-G_i/k_B T}$ nach der Temperatur berechnet.

$$\frac{\partial Z}{\partial T} = \frac{\partial}{\partial T} \left(\sum_j e^{-G_j/k_B T} \right) = \frac{\partial}{\partial T} \left(\sum_j e^{-H_j/k_B T - S_j/k_B} \right) = \frac{1}{k_B T^2} \left(\sum_j H_j e^{-G_j/k_B T} \right) \quad (\text{A.23})$$

Durch konsequentes Ableiten wie in Gleichung A.23, kann so die Beziehung in Gleichung 3.6 hergeleitet werden:

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial \langle H \rangle}{\partial T} \right)_\pi &= \frac{\partial}{\partial T} \left(\frac{\sum_i H_i e^{-G_i/k_B T}}{Z} \right) \\ &= \frac{\frac{1}{k_B T^2} \sum_i H_i^2 e^{-G_i/k_B T} - \frac{1}{k_B T^2} \left(\sum_i H_i e^{-G_i/k_B T} \right) \left(\sum_i H_i e^{-G_i/k_B T} \right)}{Z^2} \\ &= \frac{1}{k_B T^2} \left[\frac{1}{Z} \sum_i H_i^2 e^{-G_i/k_B T} - \frac{1}{Z^2} \left(\sum_i H_i e^{-G_i/k_B T} \right)^2 \right] \\ &= \frac{\langle H^2 \rangle - \langle H \rangle^2}{k_B T^2} \end{aligned} \quad (\text{A.24})$$

A.6. Berechnung der Federhärten aus den Kompressibilitäten

Die Ausgangssituation ist in Abbildung 3.4b) veranschaulicht. Vergrößert sich ein Lipid der Kompressibilität κ in alle Richtungen gleichmäßig um die Fläche ΔA , von A_0 aus, entsteht die Energie $\frac{1}{2\kappa} \frac{\Delta A^2}{A_0}$. Damit verlängern sich im vorgestellten Bild die Federn um Δx , von x_0 aus, und die Energie $3k\Delta x^2$ wird frei, die wiederum $\frac{1}{2\kappa} \frac{\Delta A^2}{A_0}$ entsprechen soll. Zunächst wird die Verknüpfung von ΔA und Δx bestimmt:

$$\begin{aligned} A_0 &= \frac{3\sqrt{3}}{2} x_0^2 \text{ und } A_0 + \Delta A = \frac{3\sqrt{3}}{2} (x_0 + \Delta x)^2 = \frac{3\sqrt{3}}{2} (x_0^2 + 2x_0\Delta x + \Delta x^2) \\ \Rightarrow \Delta A &= \frac{3\sqrt{3}}{2} (2x_0\Delta x + \Delta x^2) \end{aligned} \quad (\text{A.25})$$

Gleichsetzen der Energien liefert den Zusammenhang zwischen k und κ :

$$\begin{aligned}
 3k\Delta x^2 &= \frac{1}{2\kappa} \left(\frac{\left(\frac{3\sqrt{3}}{2}(2x_0\Delta x + \Delta x^2) \right)^2}{\frac{3\sqrt{3}}{2}x_0^2} \right) = \frac{3\sqrt{3}}{4\kappa} \left(\frac{1}{x_0^2} (4x_0^2\Delta x^2 + 4x_0\Delta x^3 + \Delta x^4) \right) \\
 \Leftrightarrow 3k\Delta x^2 &= \frac{3\sqrt{3}}{\kappa} \Delta x^2 \left(1 + \frac{\Delta x}{x_0} + \frac{\Delta x^2}{4x_0^2} \right) \\
 \Leftrightarrow k &= \frac{\sqrt{3}}{\kappa} \left(1 + \frac{\Delta x}{x_0} + \frac{\Delta x^2}{4x_0^2} \right)
 \end{aligned} \tag{A.26}$$

A.7. Berechnung der Lipidflächen aus den Lipidpositionen

Abbildung A.1 veranschaulicht die Situation. Das Ziel ist es die dort skizzierte Fläche A zu berechnen. Die Summe aller sechs dieser umgebenden Dreiecksflächen entspricht der Fläche des Lipids. Es genügt also die Berechnung einer Dreiecksfläche zu zeigen.

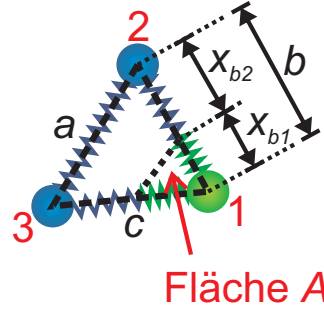


Abbildung A.1.: Exemplarischer Teil einer Lipidfläche in Form einer Dreiecksfläche A . Diese ist durch die Seitenlängen a , b und c zu den benachbarten Lipiden zusammen mit den Federhärten bestimmt.

Sei Lipid 1 mit 2 durch die Seite b verbunden, 1 mit 3 durch c und 2 mit 3 durch a . Entsprechend sind die Federhärten k_1 , k_2 und k_3 definiert. Der Kosinus des Winkels γ zwischen b und c ist gegeben durch:

$$\cos(\gamma) = \frac{b^2 + c^2 - a^2}{2bc} \tag{A.27}$$

Sei Δx_{b1} und Δx_{b2} die Streckung der Federn der Seite b von Lipid 1 oder 2. Sei $k = \left(\frac{1}{k_1} + \frac{1}{k_2} \right)^{-1}$ die Federkonstante der seriellen Federn auf b . Sind diese nun um $\Delta x_b = (b - x_{01} - x_{02})$ gestreckt, gilt (x_{01} , x_{02} sind die Ruhelängen der Federn an Lipid 1 oder 2):

$$\begin{aligned}
 \Delta x_b &= \Delta x_{b1} + \Delta x_{b2} \\
 \Leftrightarrow \Delta x_{b1} &= \Delta x_b - \Delta x_{b2} = \overbrace{\left(\frac{1}{k} - \frac{1}{k_2} \right)}^{\Delta x_{bk}} = \Delta x_b \left(1 - \frac{k}{k_2} \right) \\
 &= \Delta x_b \left(\frac{k_2}{k_1 + k_2} \right)
 \end{aligned} \tag{A.28}$$

Damit ist Δx_{b1} durch die zu Beginn gegebenen Größen bestimmt, wobei sich gleiches für Δx_{c1} zeigen lässt. Da nun die Längen der Federn $x_{b1} = x_{01} + \Delta x_{b1}$ und $x_{c1} = x_{01} + \Delta x_{c1}$ von Lipid 1 bekannt sind, lässt sich die Dreiecksfläche A mit Hilfe von Gleichung A.27 berechnen.

$$\begin{aligned}
 x_{a1} &= \sqrt{x_{b1}^2 + x_{c1}^2 - x_{b1}x_{c1}\cos(\gamma)} \\
 s_1 &= \frac{x_{a1} + x_{b1} + x_{c1}}{2} \\
 \Rightarrow A &= \sqrt{s_1(s_1 - x_{a1})(s_1 - x_{b1})(s_1 - x_{c1})}
 \end{aligned} \tag{A.29}$$

A.8. Bedingung für Totalreflexion einer akustischen Welle an einer Grenzfläche

Medium 1 besitze die akustische Ausbreitungsgeschwindigkeit c_1 , Medium 2 die Ausbreitungsgeschwindigkeit c_2 . Die Grenzfläche befinde sich bei $x = 0$ in der yz -Ebene, wobei ohne Beschränkung der Allgemeinheit angenommen werden kann, dass der Wellenvektor \vec{k} der einfallenden Welle $Ae^{i(\omega t - k_{1x}x - k_{1y}y)}$ nur eine x -Komponente k_{1x} und eine y -Komponente k_{1y} hat und mit dem Einfallswinkel Θ_1 auftrifft (die Einfallswinkel werden zum Lot auf die yz -Ebene gemessen). Die gebrochene Welle sei entsprechend durch k_{2x} und k_{2y} mit Θ_2 bestimmt. Es gilt $k_{1y} = \sin\Theta_1 k_1$ und $k_{2y} = \sin\Theta_2 k_2$, wobei k_1 und k_2 die Länge des Wellenvektoren der Wellen im entsprechenden Medium seien. Bei $x = 0$ muss gelten, dass $k_{1y} = k_{2y}$, da die y -Komponente der Wellenausbreitung für alle Zeiten und Punkte der y -Achse die gleiche sein muss und nicht von der x -Koordinate abhängt (vor allem bei $x = 0$). Dagegen besitzt die Ausbreitung der Welle in x -Richtung eine Randbedingung bei $x = 0$ und es kann deshalb sein, dass $k_{1x} \neq k_{2x}$. Für die Wellen mit Frequenz ω im Medium gilt ferner, dass $k_1 = \frac{\omega}{c_1}$ und $k_2 = \frac{\omega}{c_2}$. Aus $k_{1y} = k_{2y}$ folgt damit unmittelbar, dass:

$$\begin{aligned}
 \sin\Theta_1 k_1 &= \sin\Theta_2 k_2 \Leftrightarrow \sin\Theta_1 \frac{\omega}{c_1} = \sin\Theta_2 \frac{\omega}{c_2} \\
 \Rightarrow \frac{\sin\Theta_1}{\sin\Theta_2} &= \frac{c_1}{c_2}
 \end{aligned} \tag{A.30}$$

Bei Totalreflexion muss Θ_1 so geschaffen sein, dass $k_{2x} = \cos\Theta_2 k_2 \leq 0 \Leftrightarrow \Theta_2 \geq 90^\circ$. Damit folgt aus Gleichung A.30 für den mindestens zu erreichenden Grenzfall, dass $\Theta_2 = \arcsin\left(\frac{c_2}{c_1} \sin\Theta_1\right) = 90^\circ$. Damit folgt direkt die Bedingung für Totalreflexion:

$$\Theta_1 > \arcsin \frac{c_1}{c_2} \quad (\text{A.31})$$

A.9. Temperaturverteilung in der Subphase durch eine akustische Monolayer-Welle

Die Temperaturleitungsgleichung in einer Dimension, ähnelt der Navier-Stokes-Gleichung für rein viskose Flüssigkeiten und hat folgende Form.

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \chi \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} \quad (\text{A.32})$$

Dabei ist $\chi = \frac{a}{c_p \rho}$ die Temperaturleitfähigkeit, in der a die Wärmeleitfähigkeit, c_p die Wärmekapazität bei konstantem Druck und ρ die Dichte des betrachteten Körpers ist. Linearisiert man diese Differentialgleichung für kleine Temperaturänderungen ΔT , Zeiten Δt und Strecken Δx , so folgt, dass $\Delta x^2 = \chi \Delta t$. Für kleine Strecken $l = \Delta x$ lässt sich also die Zeit $\tau = \Delta t$ abschätzen, die die Temperatur in einem Körper benötigt um sich über l auszugleichen. Für l in Abhängigkeit von τ ergibt sich folgender Zusammenhang.

$$l \approx \sqrt{\chi \tau} \quad (\text{A.33})$$

Nun wird der Fall einer periodischen Temperaturschwankung $T = T_0 e^{i\omega t}$ in der xy -Ebene bei $z = 0$ betrachtet, die durch den sich ständig komprimierenden und expandierten Monolayer erzeugt wird. Die entstehende Verteilung $T(z, t)$ in z -Richtung soll mit Hilfe der Wärmeleitungsgleichung A.32 bestimmt werden. Auf Grund der Randbedingung bei $z = 0$ wird der Ansatz $T(z, t) = T_0 e^{-mz} e^{i\omega t}$ verwendet und in Gleichung A.32 eingesetzt.

$$\begin{aligned} i\omega = \chi m^2 &\Leftrightarrow m = \sqrt{\frac{i\omega}{\chi}} = \sqrt{\frac{\omega}{2\chi}} + i \sqrt{\frac{\omega}{2\chi}} \\ \Rightarrow T(z, t) &= T_0 e^{-z \sqrt{\frac{\omega}{2\chi}}} e^{i(\omega t - z \sqrt{\frac{\omega}{2\chi}})} \end{aligned} \quad (\text{A.34})$$

Das bedeutet, dass die Temperatur unter der xy -Ebene der periodischen Schwankung folgt und exponentiell in z -Richtung abklingt. Die Temperaturverteilung ist also fest durch die Randbedingung bei $z = 0$ vorgegeben.

A.10. Verknüpfung von Kompressibilität und Relaxationszeiten

Nach Onsager ist der thermodynamische Fluss $\frac{\partial X}{\partial t}$ einer thermodynamischen Variable X über einen Transportkoeffizienten L direkt proportional zur Affinität $\frac{\partial S}{\partial X}$ der Entropie S , was durch die Beziehung $\frac{\partial X}{\partial t} = L \frac{\partial S}{\partial X}$ ausgedrückt wird. Diese ist vergleichbar mit den von vielen physikalischen Phänomenen bekannten Verknüpfungen von Fluss und Gradienten, wie beispielsweise von Wärmefluss und Temperaturgradient. Für die Flächenänderung $A' = A - A_0$ eines Monolayers (Fläche A , Gleichgewichtsfläche A_0 , Entropie S) gilt damit:

$$\frac{\partial A'}{\partial t} = L \frac{\partial S}{\partial A'} = L \frac{\partial S}{\partial A} \quad (\text{A.35})$$

Ist der Monolayer nahe am Gleichgewicht A_0 (mit Entropie S_0), lässt sich die Entropie S entwickeln (nur die Terme 2.Ordnung bleiben im Gleichgewicht bestehen) und zusammen mit Gleichung A.35 die Differentialgleichung der Relaxation aufstellen.

$$\begin{aligned} S &= S_0 + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 S}{\partial A^2} \right)_{A_0} A'^2 \Rightarrow \frac{\partial S}{\partial A} = \frac{\partial S}{\partial A'} = \left(\frac{\partial^2 S}{\partial A^2} \right)_{A_0} A' \\ \Rightarrow \frac{\partial A'}{\partial t} &= L \left(\frac{\partial^2 S}{\partial A^2} \right)_{A_0} A' \end{aligned} \quad (\text{A.36})$$

Die Lösung zu obiger Gleichung ist eine Funktion der Form $A' = A'_0 e^{-\frac{t}{\tau}}$, die nach Einsetzen die Relation $-\frac{1}{\tau} = L \left(\frac{\partial^2 S}{\partial A^2} \right)_{A_0}$ liefert. Diese kann folgendermaßen umgeformt werden, wobei dazu die Definition von $\kappa_{T/S}$ aus Gleichungen 2.6/2.9 und die Beziehungen $\pi = \frac{\partial E}{\partial A}$ und $T = \frac{\partial E}{\partial S}$ verwendet werden.

$$\begin{aligned} -\frac{1}{T \kappa_{T/S} A} &= \frac{1}{T} \left(\frac{\partial \pi}{\partial A} \right)_{T/S} \stackrel{\text{für } T \approx}{=} \frac{1}{T} \frac{\partial}{\partial A} \left(\frac{\partial E}{\partial A} \right)_{T/S} = \frac{\partial}{\partial A} \left(\frac{1}{T} \frac{\partial E}{\partial S} \frac{\partial S}{\partial A} \right)_{T/S} = \left(\frac{\partial^2 S}{\partial A^2} \right)_{T/S} \\ \stackrel{A \approx A_0}{\Rightarrow} -\frac{1}{\tau} &= -L \frac{1}{T \kappa_{T/S} A} \Leftrightarrow \tau = \frac{\kappa_{T/S} A T}{L} \end{aligned} \quad (\text{A.37})$$

Damit ist die Relaxationszeit τ der Flächenänderung A' eines Monolayers direkt proportional zu dessen Kompressibilität $\kappa_{T/S}$. Gleiches muss auch für die Relaxation der Oberflächendruckänderung π' gelten, denn nach der Definition von $\kappa_{T/S}$ (Gleichungen 2.6/2.9) lässt sich dieser in guter Näherung mit A' durch $\pi' = -\frac{1}{\kappa_{T/S}} \frac{A'}{A}$ verknüpfen. Das bedeutet, dass sich bei der Relaxation von π' lediglich Amplitude und Vorzeichen gegenüber der entsprechenden Relaxation von A' ändert, so dass der Zusammenhang für die Relaxationszeit τ aus Gleichung A.37 bestehen bleibt.

Anhang B: Methodische und anderweitige Details

B.1. Herstellung von Lipidproben, Lösungen und Säuren

B.1.1. Lipidproben und Lösungen

Alle verwendeten Lipide wurden von *Avanti Polar Lipids* in gelöster Form oder als Pulver bezogen. Für die Filmwaagenexperimente werden stets $10\frac{mg}{ml}$ -Lösungen der Lipide hergestellt.

- **DPPC** : Die gelieferte, gelöste Form von DPPC ist stets in $10\frac{mg}{ml}$ -Lösungen in Chloroform und wird deshalb direkt verwendet. In Pulverform werden in etwa $10mg$ des Lipides in ein zuvor gründlich mit Chloroform gereinigtes Probenfläschchen abgewogen. Das exakte eingewogene Gewicht m wird dazu benutzt mit Hilfe einer Hamiltonspritze $m * 0,1\frac{ml}{mg}$ Chloroform in das Probenfläschchen abzumessen, um so die $10\frac{mg}{ml}$ -Lösung der Lipide zu erhalten.
- **DPPG** : Die gelieferte, gelöste Form von DPPG ist stets in $10\frac{mg}{ml}$ -Lösungen in Chloroform-Methanol-Wasser (65:35:8) und wird deshalb direkt verwendet. In Pulverform werden in etwa $10mg$ des Lipides in ein zuvor gründlich mit Chloroform gereinigtes Probenfläschchen abgewogen. Da sich das Lipid in reinem Chloroform nicht lösen lässt, wird als Lösungsmittel eine Mischung aus Chloroform und Methanol mit etwas Wasser verwendet. Dementsprechend wird das exakte eingewogene Gewicht m benutzt um mit einer Hamiltonspritze $m * \frac{65}{108} * 0,1\frac{ml}{mg}$ Chloroform, $m * \frac{35}{108} * 0,1\frac{ml}{mg}$ Methanol und $m * \frac{5}{108} * 0,1\frac{ml}{mg}$ Wasser in das Probenfläschchen abzumessen, um so die $10\frac{mg}{ml}$ -Lösung der Lipide zu erhalten.
- **Schweinehirnlipide** : Die gelieferte, gelöste Form der Schweinehirnlipide ist stets in $10\frac{mg}{ml}$ -Lösungen in Chloroform und wird deshalb direkt verwendet. Die Pulverform wird in diesem Fall nicht benutzt, wobei sie auf die selbe Art und

Weise wie DPPC gelöst würde. Tabelle B.1 zeigt die Lipidkomponenten die im benutzten Schweinehirnlipidextrakt vorhanden sind.

Komponente	Prozentualer Anteil (%)
PC	9,6
PE	16,7
PI	1,6
PS	10,6
PA	2,8
Unbekannt	58,7

Tabelle B.1.: Zusammensetzung der Schweinehirnlipide, bei denen es sich um das Extrakt der Lipide aus einem Schweinehirn handelt. Es sind nur die jeweiligen Kurzbezeichnungen der Kopfgruppen angegeben, die kombiniert mit verschiedenen Längen und Typen von Kohlenwasserstoffketten auftreten können.

B.1.2. Säuren und Lösungsmittel

Es werden in dieser Arbeit verschiedene Konzentrationen von Salzsäure, Essigsäure und Ethanol in Wasser verwendet. Der pH des verwendeten, reinen Wassers war stets $\approx 6,5$, was einer H^+ -Konzentration von $c_W = 10^{-6,5} \frac{\text{mol}}{\text{l}} \approx 3,2 \cdot 10^{-7} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ entspricht.

- **Salzsäure :** Als Ausgangspunkt dient 37%ige Salzsäure, bei einer Konzentration von $c_S = 12 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$. Salzsäure ist eine sehr starke Säure und dissoziiert deshalb komplett, so dass angenommen werden kann, dass in einer Wasserlösung von Salzsäure die, den pH definierende Konzentration $c_H = 10^{-pH} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ des H^+ , der Konzentration c der Salzsäure entspricht. Um ein Volumen V von reinem Wasser mit Hilfe von Salzsäure auf einen bestimmten pH einzustellen, muss dementsprechend folgende Menge V_S der 37%ige Salzsäure zu V hinzugegeben werden.

$$10^{-pH} \frac{\text{mol}}{\text{l}} = c_H = \frac{c_W V + c_S V_S}{V + V_S} \Leftrightarrow V_S = \frac{c_W - c_H}{c_H - c_S} V \quad (\text{B.1})$$

Auf diese Weise werden wässrige Lösungen von Salzsäure bei den pHs 5, 4, 3, 2, 1, 0 und -1 (entsprechend reiner 37%iger Salzsäure) hergestellt.

- **Essigsäure :** Als Ausgangspunkt dient reine Essigsäure bei einer Konzentration von $c_{\text{pur}} = 17 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$. Essigsäure ist eine schwache Säure mit einer Säurekonstante $pK_S \approx 4,76$ und damit $K_S \approx 10^{-4,76} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$. Für letzteren Wert gilt $K_S = \frac{c(\text{CH}_3\text{COO}^-)c(H^+)}{c(\text{CH}_3\text{COOH})}$, wobei angenommen wird, dass sich die Azetat- und H^+ -Konzentrationen entsprechen und damit $c(\text{CH}_3\text{COO}^-) \approx c(H^+) = c_H$. Die Konzentration der Säure wird im Folgenden als c_S ($= c(\text{CH}_3\text{COOH})$) bezeichnet.

Der minimal pH, der mit reiner Essigsäure erreicht werden kann, ist $\approx 1,8$ (was sich aus der Relation $10^{-\text{pH}} \frac{\text{mol}}{\text{l}} = c_H = \sqrt{K_S c_{\text{Pur}}}$ ergibt). Um einen gewissen pH und damit eine H^+ -Konzentration c_H einzustellen ist eine Essigsäure-Konzentration $c_S = \frac{c_H^2}{K_S} = \frac{(10^{-\text{pH}})^2}{K_S}$ nötig. Für ein Volumen V von reinem Wasser, lässt sich das nötige Volumen V_S von reiner Essigsäure folgendermaßen bestimmen.

$$\begin{aligned} c_S &= \frac{c_H^2}{K_S} = \frac{(10^{-\text{pH}} \frac{\text{mol}}{\text{l}})^2}{K_S} \\ c_S &= \frac{c_W V + c_{\text{Pur}} V_S}{V + V_S} \Leftrightarrow V_S = \frac{c_W - c_S}{c_S - c_{\text{Pur}}} V \end{aligned} \quad (\text{B.2})$$

Auf diese Weise werden wässrige Lösungen von Essigsäure bei den pHs 5, 4, 3, 2, 2, 8, 2, 6, 2, 4, 2, 2, 2, 1, 2, 1, 9 und 1, 8 (entsprechend reiner Essigsäure) hergestellt.

- **Ethanol** : Als Ausgangspunkt dient reines Ethanol bei einer Konzentration von $c_{\text{Pur}} = 17,2 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$. Zum Vergleich sollen die selben Konzentrationen der Essigsäure (c_S) auch für Ethanol (c_E) eingestellt werden. Für ein Volumen V von reinem Wasser, lässt sich das nötige Volumen V_E von reinem Ethanol folgendermaßen bestimmen.

$$\begin{aligned} c_E &\stackrel{!}{=} c_S = \frac{c_H^2}{K_S} = \frac{(10^{-\text{pH}} \frac{\text{mol}}{\text{l}})^2}{K_S} \\ c_E &= \frac{c_{\text{Pur}} V_E}{V + V_E} \Leftrightarrow V_E = \frac{-c_E}{c_E - c_{\text{Pur}}} V \end{aligned} \quad (\text{B.3})$$

Auf diese Weise werden Wasserlösungen von Ethanol bei den Konzentrationen $5,8 \cdot 10^{-4} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ (vgl. pH Essigsäure ≈ 4), $5,8 \cdot 10^{-2} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ (vgl. pH Essigsäure ≈ 3), $9,1 \cdot 10^{-2} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ (vgl. pH Essigsäure $\approx 2,8$), $0,36 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ (vgl. pH Essigsäure $\approx 2,6$), $0,91 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ (vgl. pH Essigsäure $\approx 2,4$), $2,29 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ (vgl. pH Essigsäure $\approx 2,2$), $3,63 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ (vgl. pH Essigsäure $\approx 2,1$), $5,75 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ (vgl. pH Essigsäure ≈ 2) und $9,12 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ (vgl. pH Essigsäure $\approx 1,9$) hergestellt.

B.1.3. Ringerlösung

Zur Herstellung der Ringerlösungen wird eine vorgefertigte Mischung verschiedener Salze und Substanzen von *Sigma Aldrich* verwendet. Tabelle B.2 zeigt die Komponenten um einen Liter an Ringerlösung herzustellen. Diese Mischung wird zunächst in einem Glaskolben in etwa 0,9l reinem Wasser gelöst. Anschließend werden 1,26g Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) gelöst. NaHCO_3 dient als Puffer nach dem Reaktionschema $\text{CO}_3^{2-} + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$ und hält so den pH der Lösung auf einem konstanten pH von ≈ 7 , unabhängig davon ob kleine Mengen an

Säuren oder Basen zur Ringerlösung hinzugegeben werden. Anschließend wird das Wasser in dem Glaskolben auf 1l aufgefüllt und die so hergestellte Ringerlösung kann für Experimente verwendet werden.

Komponente	Menge in g (entspricht $\frac{g}{l}$ in Lösung)
D-Glucose	1,8
Magnesiumchlorid ($MgCl$)	0,0468
Kaliumchlorid (KCl)	0,34
Natriumchlorid ($NaCl$)	7
Natriumphosphat, dibasisch (NaH_2PO_4)	0,1
Natriumphosphat, monobasisch (Na_2HPO_4)	0,18

Tabelle B.2.: Substanzen und deren Mengen der Mischung, die zur Herstellung eines Liters an Ringerlösung verwendet wird.

B.2. Typischer Vorgang eines Filmwaagen-Experiments

Zum Beginn eines jeden Experiments ist ein gründliches Reinigen und Vorbereiten der Filmwaage und des Monolayers nötig. Die verwendeten Phospholipide werden meist in Chloroform gelöst in Konzentrationen von $10mg/ml$ verwendet (vgl. Anhang B.1). Die Vorbereitung des eigentlichen Filmwaagen-Experiments lief nach folgendem Schema ab:

1. Auswischen des Troges mit Isopropanol, Auffüllen mit Reinstwasser, das im Anschluss wieder abgesaugt wird. 2-3 Faches wiederholen dieses Vorgangs.
2. Auffüllen des Troges mit Reinstwasser und anschließendem Absaugen des Wassers. 2-3 Faches wiederholen dieses Vorgangs.
3. *Falls Experiment mit Kelvin-Sonde:* Reinigen der Referenz-Elektroden-Platte mit Ethanol, Isopropanol und Wasser. Anschließendes Einlegen der Platte in den Trog.
4. *Falls Experiment mit zusätzlicher Barriere:* Reinigen der Zusatzbarriere mit Isopropanol und anschließendes Einlegen in den Trog.
5. *Falls Experiment mit elektrischer Chip-Anregung mit Kontaktierung von Unten:* Montage des IDT-Chips an die Dippermechanik. Anschließendes langsames Absenken des Chips unter eine Höhe die den Kanten des Troges entspricht.

B.2. Typischer Vorgang eines Filmwaagen-Experiments

6. Auffüllen des Troges mit Wasser oder der gewünschten Lösung für die Subphase des Experiments.
7. Reinigen der Teflonbarriere mit Isopropanol. Anschließendes montieren der Barriere am Teflontrog mit Kontakt zur Wasseroberfläche (siehe Abbildung 2.3).
8. Montieren des ersten Wilhelmy-Plättchens am ersten Kraftsensor mit Kontakt zur Subphase.
9. *Falls Experiment mit zwei Oberflächendrucksensoren:* Montieren des zweiten Wilhelmy-Plättchens am zweiten Kraftsensor mit Kontakt zur Subphase.
10. *Falls Experiment mit Kelvin-Sonde:* Montieren der Kelvinsonde über der Referenzelektroden-Platte in ca. 2mm Abstand zur Wasseroberfläche.
11. Reinigen einer 10 μ l Hamilton-Spritze durch mehrmaliges (≥ 10) Aufziehen und Ausdrücken der Spritze mit reinem Chloroform.
12. Aufnehmen der entsprechenden Menge (ca. 5 μ l im vorliegenden Fall) an Lipid-Chloroform-Lösung.
13. Tropfenweises, langsames Aufbringen der Lipidlösung auf die Wasseroberfläche zwischen Wilhelmy-Plättchen und Barriere.
14. Abschließendes ca. 15 minütiges Warten, um ein vollständiges Verdampfen des Chloroforms sicherzustellen.
15. *Falls Experiment mit Kelvin-Sonde:* Einschalten der Kelvin-Sonde und ca. 30 minütige Messung des Oberflächenpotentials, bis sich dieses auf einen konstanten Wert eingependelt hat.
16. *Falls Experiment mit elektrischer Chip-Anregung mit Kontaktierung von Unten:* Langsames Anheben des Chips unter die Monolayer-Oberfläche und Anschließen des Chips an den entsprechenden Hochfrequenzverstärker mit Hochfrequenzgenerator.
17. *Falls Experiment mit elektrischer Chip-Anregung mit Kontaktierung von Oben:* Montage des IDT-Chips an die Dippermechanik. Anschließendes langsames Absenken des Chips auf die Monolayer-Oberfläche und Anschließen des Chips an den entsprechenden Hochfrequenzverstärker mit Hochfrequenzgenerator.

Mit Hilfe der Software der Filmwaage und dem entsprechenden zusätzlichen Equipment der jeweiligen Experimente können nun die Versuche diese Arbeit durchgeführt werden.

B.3. Energieproduktion durch diskrete Zeitschritte

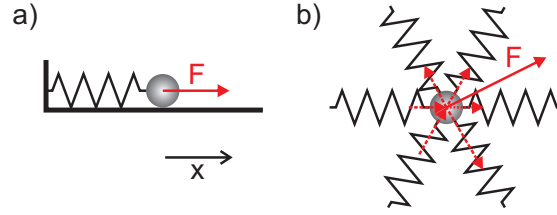


Abbildung B.1.: a) Skizze eines einfachen Federpendels. b) Durch das Auftreten einer Vielzahl an Federkräften verkompliziert sich das System.

Um zu veranschaulichen, wie es bei der Diskretisierung von Bewegungen durch feste Zeitäquivalente zur „Produktion“ von Energie kommen kann, soll zunächst das einfache Beispiel eines Federpendels wie es in Abbildung B.1a) skizziert ist, betrachtet werden. In diesem einfachen Fall, ist, bei einer Federhärte k und einer bewegten Masse m , das System eindeutig durch eine Differentialgleichung bestimmt:

$$\ddot{x}m = -kx \Rightarrow x(t) = A \cos(\sqrt{\frac{k}{m}}t) , \text{ für } x(0) = A \quad (\text{B.4})$$

Die Lösung in Gleichung B.4 beschreibt das Beispiel einer zu Beginn um A gespannten Feder. Bei einer Diskretisierung dieses Beispiels wird die neue Position nach dem Zeitäquivalent δ durch $x(\delta)_{\text{diskret}} = A - \frac{1}{2} \frac{Ak}{m} \delta^2$ berechnet. Die exakte Lösung der Differentialgleichung liefert aber $x(\delta)_{\text{exakt}} = A \cos(\sqrt{\frac{k}{m}}\delta)$. Nach der Entwicklung des Kosinus lassen sich die beiden Formen vergleichen:

$$x(\delta)_{\text{exakt}} = A \cos(\sqrt{\frac{k}{m}}\delta) = A - \frac{1}{2} \frac{Ak}{m} \delta^2 + \frac{1}{24} \frac{Ak^2}{m^2} \delta^4 \pm \dots > x(\delta)_{\text{diskret}} = A - \frac{1}{2} \frac{Ak}{m} \delta^2 \quad (\text{B.5})$$

Das bedeutet bei der Diskretisierung wird sich die Masse m stets zu weit bewegen, ausgehend von irgendeinem gespannten Zustand der Feder um A . Dafür ist, im Vergleich zur exakten Lösung, mehr Energie nötig, die somit zusätzlich ins System gebracht wird. Sie manifestiert sich in zu hohen Geschwindigkeiten $v_{\text{diskret}} = \dot{x}_{\text{diskret}}$ und resultiert in einem unphysikalischen Zunehmen der Schwingungsamplitude mit zunehmender Anzahl an diskreten Zeitschritten δ . Dies kann durch eine Reibungskonstante c_R verhindert werden, die für das Beispiel des obigen Falles so gewählt würde, dass:

$$x_{\text{exakt}} \leq x_{\text{diskret}} , \text{ mit } x_{\text{diskret}} = A - \frac{1}{2} \left(\frac{Ak}{m} - c_R v_{\text{diskret}} \right) \delta^2 \quad (\text{B.6})$$

Dabei kann v_{diskret} aus einem früheren Schritt stammen. Es wird deutlich, dass c_R abhängig der Größe des festen δ gewählt werden muss. c_R kann und sollte also stets so

gewählt werden, dass Gleichung B.6 erfüllt ist. Da die Gleichheit auf Grund verschiedener Kräfte nicht exakt erreichbar ist, wird in Kauf genommen, dass das gesamte System gedämpft wird, was aber einer physikalischen Reibung entspricht.

Abschließend soll noch kurz erörtert werden, warum nicht obige exakte Lösung für die Berechnungen in den Simulationen dieser Arbeit verwendet wird. Der Grund dafür ist in Abbildung B.4b) skizziert. Er besteht einfach darin, dass durch das komplexe Ineinandergreifen vieler Federkräfte, die einfache Differentialgleichung B.4 sich stets ändert und komplexer wird. Die exakte Lösung wird nicht mehr auf einfachem Wege möglich und die verwendete Diskretisierung wird damit als effizienter Ausweg sinnvoll.

B.4. Auszüge aus dem Programmquellcode zur Simulation

Beispiel für den Definitionscode der die wichtigen Parameter, durch die die Eigenschaften des simulierten Modells definiert werden, enthält. Hier können sowohl Ruhelängen der Federn, Federhärten, Wechselwirkungsparameter, als auch Zeitäquivalent und Simulationsreihen definiert werden.

```
//Pures DPPC

const double AVOG = 6.022E23; //Avogadro-Konstante

const int msize = 72; //Gitternetzgröße x
const int nsize = 71; //Gitternetzgröße y

const long It = 3000000; //Iterationen pro Kompression oder Temperatur

const double Shows = 0.1; //Häufigkeit der grafischen Darstellung

const int GRAPH = 1; //Ein-, Ausschalten grafische Darstellung

const double R = 8.3145; //Universelle Gaskonstante

//Enthalpieänderung beim Phasenübergang zur Berechnung von dG
const double deH[4] = {36700/AVOG, -36700/AVOG, 36700/AVOG, -36700/AVOG};

const double Tm = 287; //Phasenübergangstemperatur in K

const double wwgf = (1187)/AVOG; //Wechselwirkung unterschiedlicher Lipide

//Wechselwirkungsmatrix
const double wgf[5][5] =
    {0, wwgf, 0, wwgf, 0,
     wwgf, 0, wwgf, 0, 0,
     0, 0, wwgf, 0, wwgf, 0,
     0, wwgf, 0, wwgf, 0, 0,
     0, 0, 0, 0, 0};

const double kg = 1/4.0; //1/Kompressibilität Gel Phase
const double kf = 1/10.0; //1/Kompressibilität Fluide Phase

const double gxo = 4.45E-10; //Ruhelänge Gel Phase
const double fxo = 5.90E-10; //Ruhelänge Fluide Phase

//Ruhelängenmatrix
const double xo[5][5] =
    {gxo + gxo, gxo + fxo, gxo + gxo, gxo + fxo, 0,
```

```

    gxo + fxo, fxo + fxo, gxo + fxo, fxo + fxo, 0,
    gxo + gxo, fxo + gxo, gxo + gxo, fxo + gxo, 0,
    fxo + gxo, fxo + fxo, gxo + fxo, fxo + fxo, 0,
    0,0,0,0,0};

const double Intervall = 2.4E-14; //Zeitäquivalent

const double IntervallCorConst = 0.00004E-10; //Reibungskonstante

const double Mass = 1E-3*734.1/AVOG; //Lipidmasse in kg

const int nT = 10; //Anzahl der Kompressionen oder Temperaturen

//Temperaturliste in K
const double T[nT] =
    {297, 297, 297,
     297, 297, 297,
     297, 297, 297,
     297};

//Kompressionsliste in Prozent der vorangegangenen Größe
const double Aa[nT] =
    {1.0, 1.0, 1.0,
     0.9957, 0.9957, 0.9957,
     0.9957, 0.9957, 0.9957,
     0.9957};

```

Ausschnitt aus dem Haupt-Iterations-Zyklus. Details wie die Durchführung der Kompression und der Quellcode der einzelnen Funktionen ist nicht mit aufgeführt. Der folgende Code entspricht dem Simulations-Zyklus der in Abschnitt 3.3.2, Abbildung 3.5 definiert wird.

```

//It Iterationen werden mit dem gegebenen Satz an Parametern
//unter einer Kompressionsstufe oder Temperatur durchgeführt
for (long i = 0; i < It; i++)
{
    //Änderung Potentiale (H, G), Federenergie (F), Fläche (A)
    dH = dG = dF = dA = 0;

    //Wahl eines zufälligen Lipids des Feldes St[x][y]
    zuf = (float)(rand());
    zuf /= (float)(RAND_MAX);
    x = (int)((zuf * 0.99999999) * msize)+1;
    zuf = (float)(rand());
    zuf /= (float)(RAND_MAX);
    y = (int)((zuf * 0.99999999) * nsize)+1;

    //Zufallszahl zur Wahl ob das Lipid bewegt werden soll
    //oder seinen Zustand ändern kann
    zuf = (float)(rand());
    zuf /= (float)(RAND_MAX);

    //Speicherung des alten Zustandes
    oldSt = St[x][y];

    //Berechnung der momentanen Federenergien
    Spold = UnlikeSpring(x,y,oldSt);

    //Berechnung der momentanen Wechselwirkungen
    oldE = Unlike(x,y,oldSt);

    if (zuf <= 0.5)
    {
        //////////////////////////////////////
        //Möglichkeit zur Änderung des Zustandes//
        //////////////////////////////////////

        //Ermittlung des gewechselten Zustandes
        newSt = abs(St[x][y] - 1);

        //Berechnung der nach Wechsel auftretenden Federenergien
        //und Wechselwirkungen und der dadurch entstehenden Änderungen
        Spnew = UnlikeSpring(x,y,newSt);
        dSp = (Spnew - Spold);
    }
}

```

B.4. Auszüge aus dem Programmquellcode zur Simulation

```
newE = Unlike(x,y,newSt);
dNfg = newE - oldE;

//Berechnung von dG für den Boltzmannkoeffizienten
dG = (1.0*deH[oldSt]*(1 - 1.0*T[j]/Tm) + dNfg + dSp/2)*AVOG;

//Berechnung der Wechselwahrscheinlichkeit
K = exp(-dG/(R*T[j]));
P = K/(1 + K);

//Bestimmung einer genügend feinen Zufallszahl
zuf = (int)(((double)(rand())/((double)(RAND_MAX))*1E4) +
          ((int)(((double)(rand())/((double)(RAND_MAX))*1E4))*1E4 +
          ((int)(((double)(rand())/((double)(RAND_MAX))*1E4))*1E8;
zuf /= 1E12;

if (zuf < P)
{
    //Der Zustand wird gewechselt und alle Potentiale und Energien
    //korrigiert
    St[x][y] = newSt;
    dH = dG + deH[oldSt]*T[j]/Tm*AVOG; // - dSp*AVOG;
    dF = dSp;
    CorrectLRowsSingle(x,y);
}else
{
    //Der Zustand wird beibehalten und nichts geändert
    dH = dG = dF = 0;
    K = 1;
}

}else
{

    //////////////////////////////////////
    //Das Lipid soll entsprechend seiner Federkräfte bewegt werden//
    //////////////////////////////////////

    //Berechnung der Federkräfte
    NewtonStepSingle(x,y);

    //Bewegen des Lipids
    NewtonMoveSingleCorrect(x,y);

    //Berechnung der neuen Fedenergien
    Spnew = UnlikeSpring(x,y,St[x][y]);

    //Änderungen von Potentials und Energie nach dem Bewegen
    dF = (Spnew - Spold);
    dG = dF*AVOG;
    dH = dF*AVOG;
}

//Korrektur der Potentiale, Federnenergie durch die Änderungen
//und Berechnung der Fläche
Anew = AvgArea(x,y);
A = Anew;
G = G + dG;
H = H + dH;
F = F + dF;

//Speicherung des Grundwertes von G nach 10% der Iterationen
if (i == 0.1*It) ValG = G;

////////////////////////////////////
//Berechnung thermodynamischer Größen//
////////////////////////////////////

if (i > 0.1*It)
{
    //Boltzmannfaktor abzüglich des Grundwertes von G
    Z = exp(-(G - ValG)/(R*T[j]));

    //Berechnung der Zustandssumme Q
    Q += Z;

    //Berechnung der statistischen Durchschnittswerte von H
    //Hsq=<H^2> und Hli=<H>
    Hli += H*Z;
    Hsq += (H*H*Z);
```

```

//Überläuft die Größe der Werte von H die mögliche Darstellungs-
//genauigkeit des PC soll sofort die sich ergebende Wärmekapazität
//berechnet werden und über all diese ermittelten Werte gemittelt
//werden
if(Z*H*H < Hsq*1E-14 || Z < Q*1E-14 || Z*H*H > Hsq*1E14 || Z > Q*1E14)
{
    if (Q > 1 && H != 0)
    {
        double temp = (Hsq/Q - (Hli/Q)*(Hli/Q))/(R*T[j]*T[j]);
        if (_finite(temp))
        {
            CapSum += temp;
            CapCount += 1.0;
        }
    }
    Q = Hli = Hsq = 0;
}

//Berechnung der Durchschnitte der Flächen pro Lipid
AAvg[j][av] += A;

//Berechnung der Durchschnittsfedenergie pro Lipid
FAvg[j][av] += F/(msize*nsz);

//Erhöhung des Durchschnittszählers
dFQ += 1;
}

//Berechnung des Durchschnittes aller ermittelten Werte
//für die Wärmekapazität auch wenn kein Durchschnitt
//zuvor gebildet wurde
if (CapCount < 1)
{
    CapSum += (Hsq/Q - (Hli/Q)*(Hli/Q))/(R*T[j]*T[j]);
    CapCount += 1.0;
}
Cap[j][av] = CapSum/CapCount;

//Berechnung der Durchschnittsfläche
AAvg[j][av] /= dFQ;

//Berechnung des Oberflächendrucks
FAvg[j][av] /= dFQ;
FAvg[j][av] /= (AAvg[j][av]);

```

B.5. Zusammenfassung der Anregungschipherstellung

Es sei hier auf die Arbeit [83] verwiesen, in der der Herstellungsprozess von SAW-Chips detailliert beschrieben wird. Die Chipherstellung für diese Arbeit wurde von P. Vaziri durchgeführt und erfolgt, kurz zusammengefasst, nach folgendem Schema:

1. Das verwendete Substrat wird gereinigt. In der vorliegenden Arbeit wurde $LiTaO_3$, $LiNbO_3$, kristallines SiO_2 und amorphes Quarzglas als Substrat verwendet.
2. Ein Positivlack wird aufgebracht und die IDT-Chrom-Maske darauf belichtet. Das anschließende Entwickeln des Lacks löst nur die belichtete Struktur vom Substrat ab.
3. Das Substrat mit den Strukturen wird erneut in einem Sauerstoffplasma ge-

reinigt. Bei der anschließenden Metallisierung wird mit Hilfe eines Elektronenstrahlverdampfers nacheinander eine Titan-Schicht ($\approx 10nm$), gefolgt von einer Gold-Schicht ($\approx 50nm$), gefolgt von einer Titan-Schicht ($\approx 10nm$) aufgebracht.

4. In einem Ultraschallbad mit Lösungsmittel wird nun der verbliebene Lack mit samt der aufgetragenen Metallschichten entfernt, so dass nur die IDT-Struktur zurückbleibt.
5. Nach dem Abdecken der Zuleitungskontakte des IDT durch Alufolie, wird die SiO_2 -Schutzschicht aufgedampft.

Die SiO_2 -Oberfläche des fertiggestellten Chips kann nun noch mit Hilfe von *Trichlorooctadecylsilan* hydrophobisiert werden:

1. Der Chip wird zunächst gereinigt (Ethanol, Isopropanol) und anschließend mit n-Hexan mehrmals abgespült.
2. Der Chip wird mit der zu hydrophobisierenden Seite nach unten in eine Glasschale auf Abstandshalter gelegt. Die Glasschale wird anschließend mit 30ml n-Hexan befüllt.
3. 24 μ l *Trichlorooctadecylsilan* werden zu dem n-Hexan in der Glasschale gegeben. Man lässt das *Trichlorooctadecylsilan* ca. 30min einwirken. Durch das Ausbilden von kovalenten $Si-O-Si$ -Bindungen, bindet das *Trichlorooctadecylsilan* an die SiO_2 -Oberfläche und hydrophobisiert diese durch seine Alkankette.
4. Der Chip wird wieder mehrmals mit n-Hexan abgespült und nochmals abschließend gereinigt (Ethanol, Isopropanol).

B.6. Programmquellcode zur Druckveränderungsberechnung in SciLab

SciLab-Quellcode zur numerischen Berechnung (mit Hilfe einer Isothermenkurven $\pi(A)$) der Druckveränderung, die im Integral von Gleichung 4.11 in Abschnitt 4.3.1 dargestellt ist.

```
//Laden der gemessenen DPPG-Isothermen
VFILE = "c:\Josef\Doktor\Ideen\PeakhoehenDPPG\Pressure.xls"
vsheets = readxls(VFILE)
vsh = vsheets(1); PresX = vsh(:,1)*1E-4; PresY = vsh(:,2)*1E-3;

//Berechnung einer stetigen durchgehenden Funktion aus den einzelnen
//Messpunkten der Isothermen durch lineare Interpolation
function r=SurfPres(x)
    p = 1
    for i=1:1:(length(PresX)-1)
        if x < PresX(i)
            if x > PresX(i+1)
```

```
p = i
break
end,
end,
end
dx = PresX(p+1) - PresX(p)
dy = PresY(p+1) - PresY(p)

r = PresY(p) + dy/dx*(x - PresX(p))
endfunction

w = 10E6 //Frequenz
m = 7E-8 //Lipidmasse des gesamten Monolayers
B = 0.3E-7 //Wellenamplitude der Dichte

function r=PlotFunct (oo) //oo gibt eine Reihe von Flächen an
nn = length(oo) //Anzahl der Flächen
xx = zeros(nn)
yy = zeros(nn)
ufile=file('open','c:\Josef\Doktor\Ideen\PeakhoeheDPPG\Data.txt','unknown')

for j=1:1:nn,
xx(j) = SurfPres(m/oo(j))*1E3
//Berechnung des Integrals mit Hilfe der numerischen Integration von SciLab
yy(j) = 1E3*(w/(2*pi)*integrate('SurfPres((m/(oo(j) + B*cos(w*t))))','t',0,2*pi/w,1E-12) - SurfPres((m/(oo(j))))))
//Ausgabe und Speicherung
disp(m/oo(j),yy(j),xx(j))
fprintf(ufile,"%f %f \n",xx(j),yy(j))
end

file('close',ufile)
plot(xx,yy);
r = 0
endfunction
```

B.7. Referenzmessungen zur natürlichen Anregung

Im Folgenden werden die Referenzmessungen zur natürlichen Anregung von Lipid-Monolayern gezeigt. Sie bestehen meist aus der Anregungen reiner Wasseroberflächen oder der Anregung von Lipid-Monolayern mit reinem Wasser oder Salzsäure ($\text{pH} \approx -1$).

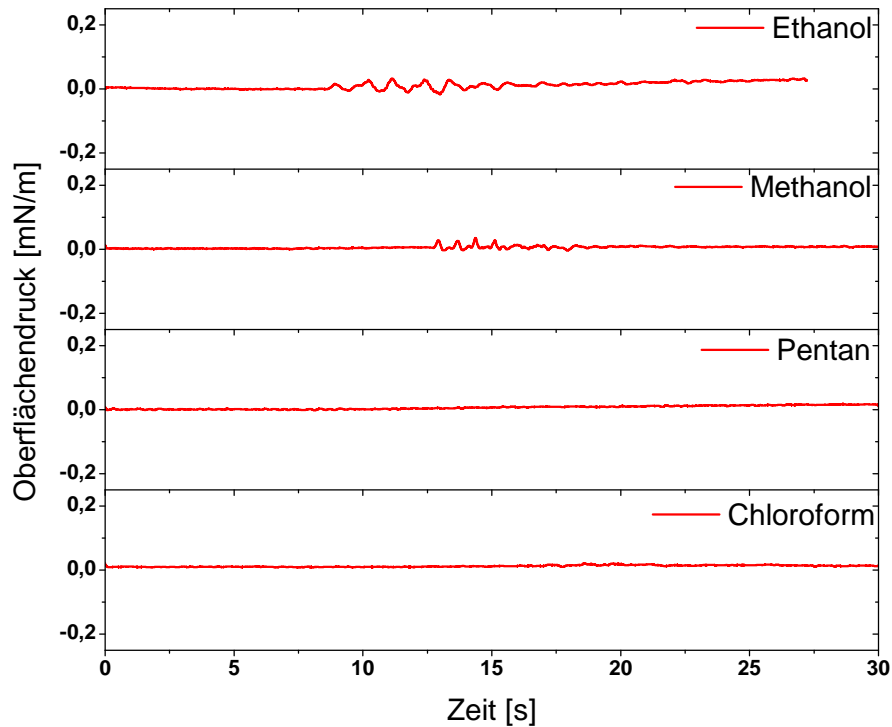


Abbildung B.2.: Aufbringen von Ethanol ($\approx 2\mu\text{l}$), Methanol ($\approx 3\mu\text{l}$), Pentan ($\approx 5\mu\text{l}$) und Chloroform ($\approx 3\mu\text{l}$) auf eine reine Wasseroberfläche (24°C). Für die Experimente wird die Zusatzbarriere und der Dippermechanismus mit Schlauchzuführung verwendet (vgl. Abbildung 5.5). Nur die Alkohole erzeugen ein sehr schwaches Fluktuieren ($< 0,02 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$), das auf das Diffundieren von Ethanol und Methanol auf der Wasseroberfläche zu den Drucksensoren hindeutet, was dort die Oberflächenspannung des Wassers leicht verändern kann.

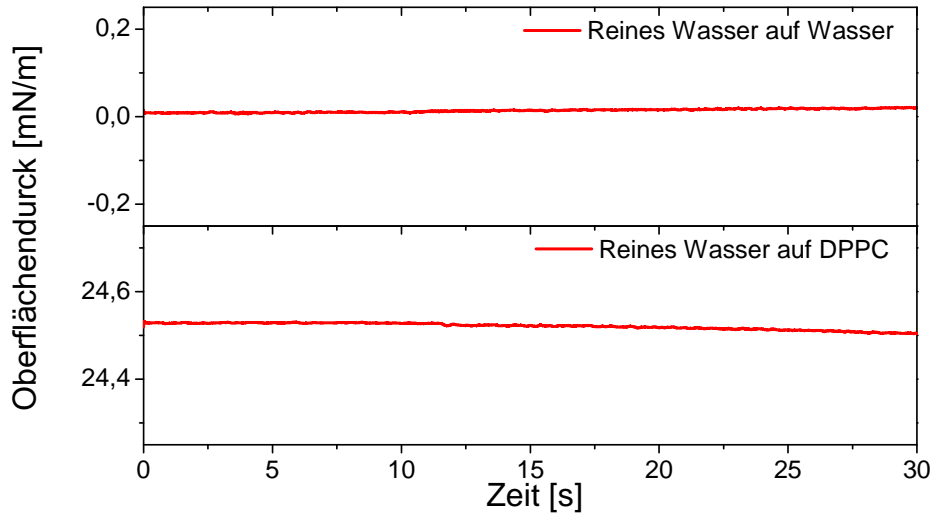


Abbildung B.3.: Aufbringen von reinem Wasser ($\approx 3\mu\text{l}$) auf eine reine Wasseroberfläche (24°C) oder einen DPPC-Monolayer (24°C bei $\approx 25 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$). Für die Experimente wird keine Zusatzbarriere und eine *Eppendorf*-Pipette verwendet (vgl. Abbildung 5.5).

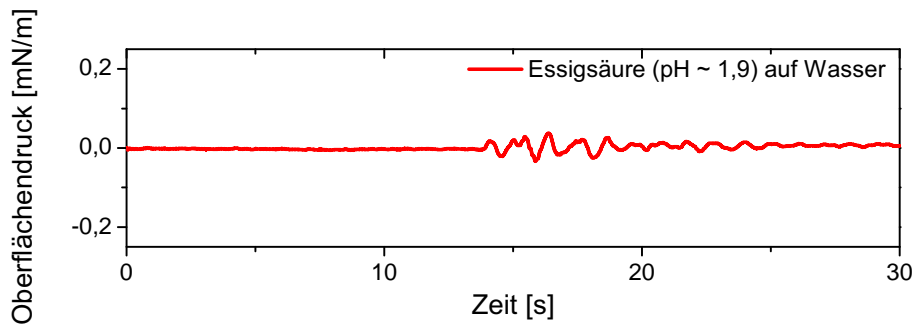


Abbildung B.4.: Aufbringen von Essigsäure (pH $\approx 1,9$, $\approx 3\mu\text{l}$) auf eine reine Wasseroberfläche (24°C). Für das Experiment wird die Zusatzbarriere und eine *Eppendorf*-Pipette verwendet (vgl. Abbildung 5.5). Wie bei Ethanol (vgl. Abbildung B.2) deuten die kleinen Fluktuationen ($< 0,04 \frac{\text{mN}}{\text{m}}$) auf das Diffundieren von Essigsäure an der Wasseroberfläche zu den Drucksensoren hin, was die Oberflächenspannung des Wassers dort leicht verändern kann.

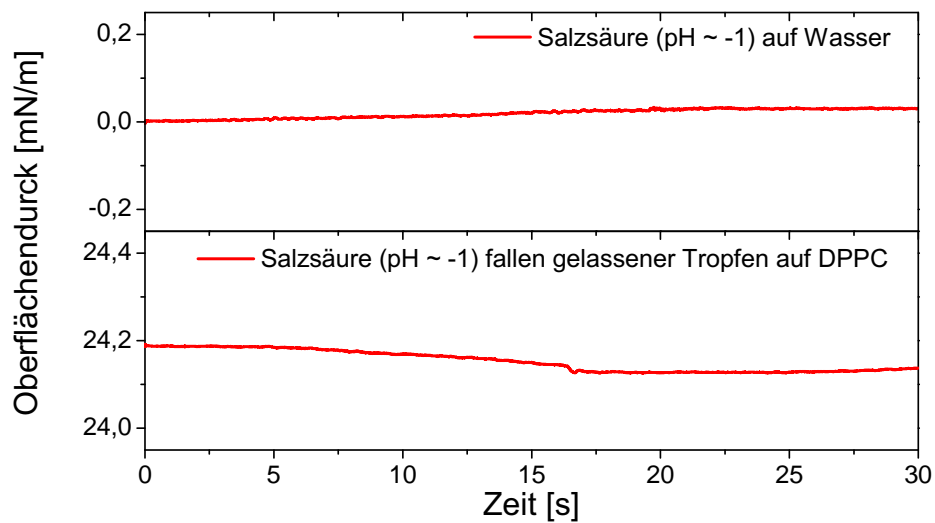


Abbildung B.5.: Aufbringen von Salzsäure ($\text{pH} \approx -1$, $\approx 3\mu\text{l}$) auf eine reine Wasseroberfläche (24°C) und Abtropfen (aus $\approx 5\text{cm}$ Höhe über dem Monolayer) von Salzsäure ($\text{pH} \approx -1$) auf einen DPPC-Monolayer (24°C bei $\approx 24\frac{\text{mN}}{\text{m}}$). Für die Experimente wird keine Zusatzbarriere und eine *Eppendorf*-Pipette verwendet (vgl. Abbildung 5.5). Beim Abtropfen der Salzsäure aus größerer Höhe kommt es beim Auftreffen des Tropfen zu einem „Ertränken“, bzw. „Mitreissen“ einiger Lipide in die Subphase, was der Grund für die schwache, abfallende Kante ist, nach der es zu keiner Relaxation zum Ausgangsdruck kommt. Es wird deutlich, dass die Salzsäureanregung in Abschnitt 5.4 durch die Gasphase der Salzsäure erzeugt wird.

B.8. Anregung von Schweinehirnlipiden auf Ringerlösung bei 37°C

Im folgenden sind die zu Abschnitt 5.6 äquivalenten Versuche mit Schweinehirnlipiden auf Ringerlösung bei 37°C gegeben. Die teilweise willkürlich auftretenden Druckveränderungen und Druckschwankungen entstehen auf Grund der Störungen durch die hohe Temperatur, die die Löslichkeit der Lipide in der Subphase erhöht, einen gesteigerten Dampfdruck über der Wasseroberfläche erzeugt und thermische Kapillarwellen anregen kann.

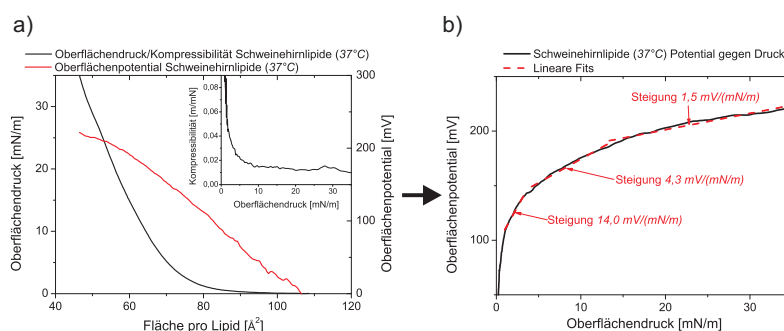


Abbildung B.6.: Isothermen des Oberflächendrucks und des Oberflächenpotentials von Schweinehirnlipiden auf Ringerlösung (37°C). Keinerlei Phasenübergangsplateaus lassen sich in den Kurven erkennen. Auffällig ist das Maximum, das für das Oberflächenpotential entsteht. Zusätzlich zeigt der Inset die entsprechende isotherme Kompressibilität κ_T . b) Die sich aus a) ergebende Verknüpfung des Oberflächenpotentials mit dem Oberflächendruck in Form der Funktion $\Psi(\pi)$. Zusätzlich sind lineare Fits für die verschiedenen Abschnitte der Kurve samt ihrer Steigungen angegeben.

B.8. Anregung von Schweinehirnlipiden auf Ringerlösung bei 37°C

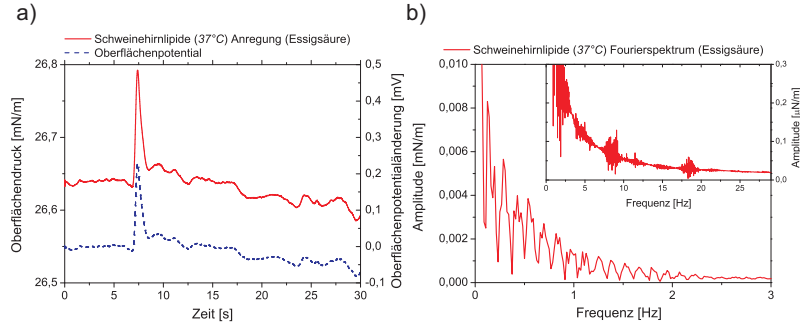


Abbildung B.7.: a) Gemessene Oberflächendruckpulsform zusammen mit der aus $\Psi(\pi)$ ermittelten Oberflächenpotentialform eines Anregungspulses bei der Essigsäureanregung eines Schweinehirnlipid-Monolayers auf Ringerlösung (37°C). Die Verläufe sind auf Grund der linearen Näherung von $\Psi(\pi)$ identisch, wobei sich das Oberflächenpotential nur in einem Bereich von $< 1\text{ mV}$ ändert. b) Fourieranalyse der Druckpulse aus a) in den Bereichen 0–3 Hz und 0–30 Hz (Inset). Das Anregungsspektrum ähnelt dem eines DPPC-Monolayers (24°C) und zeigt auch die hochfrequenten Anteile bei 9 Hz bzw. 18 Hz.

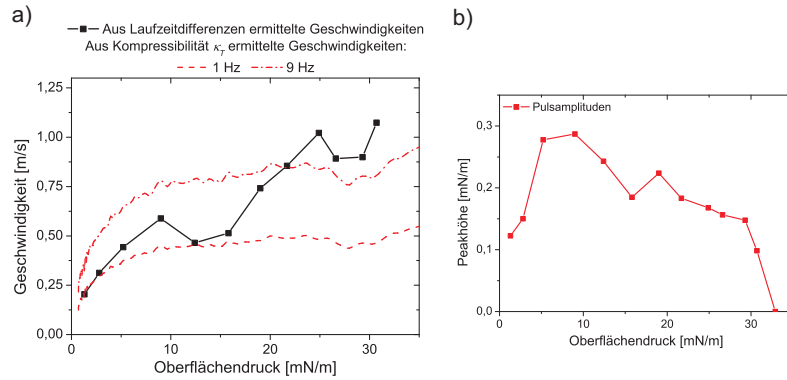


Abbildung B.8.: a) Ausbreitungsgeschwindigkeiten der Pulse bei der Essigsäureanregung (pH $\approx 1,9$) auf Schweinehirnlipid-Monolayern (37°C auf Ringerlösung) für verschiedene Oberflächendrücke. Die Geschwindigkeiten werden wie in Abschnitt 5.3.3 aus den Laufzeitdifferenzen der Anregungspulse bestimmt. Zusätzlich sind die Vorhersagen auf Grund der isothermen Kompressibilität κ_T nach $c = \frac{1}{\cos(\frac{\pi}{8})} \sqrt{\frac{1}{\kappa_S} \sqrt{\frac{\omega}{\eta_w \rho_w}}}$ für $\omega = 2 \cdot \pi \cdot 1/9\text{ Hz}$ zu sehen. b) Pulshöhen bei der Essigsäureanregung für verschiedene Oberflächendrücke der Schweinehirnlipid-Monolayer (37°C).

Referenzen

- [1] Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin. *Max Planck: zum Gedenken*. Hrsg. von Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin. Akademie Verlag, 1959.
- [2] E. Schrödinger. *Was ist Leben?: Die lebende Zelle mit den Augen eines Physikers betrachtet*. Hrsg. von L. Mazurcak. Piper, 1944 (2010).
- [3] J. D. Watson und F. H. C. Crick. „Genetical Implications of the Structure of Deoxyribonucleic Acid“. In: *Nature* 171 (1953), S. 964–967.
- [4] J. D. Watson und F. H. C. Crick. „Molecular Structure of Nucleic Acids - A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid“. In: *Nature* 171 (1953), S. 737–738.
- [5] K. Klauß. „Die erste Mitteilung von H. Helmholtz an die Physikalische Gesellschaft über die Fortpflanzungsgeschwindigkeit der Reizung in den sensiblen Nerven des Menschen“. In: *NTM Zeitschrift für Geschichte der Wissenschaft, Technik und Medizin* 2 (1994), S. 89–96.
- [6] E. Wilke. „Das Problem der Reizleitung im Nerven vom Standpunkte der Wellenlehre aus betrachtet“. In: *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 144 (1912), S. 35–38.
- [7] E. Wilke und E. Atzler. „Experimentelle Beiträge zum Problem der Reizleitung im Nerven“. In: *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 146 (1912), S. 430–446.
- [8] A. L. Hodgkin und A. F. Huxley. „A Quantitative Description of Membrane Current and its Application to Conduction and Excitation in Nerve“. In: *Bulletin of Mathematical Biology* 52 (1990), S. 25–71.
- [9] I. Tasaki. „A macromolecular approach to excitation phenomena: mechanical and thermal changes in nerve during action potential“. In: *Biological Chemistry and Physics and Medical* 20 (1988), S. 251–268.
- [10] I. Tasaki. „Mechanical And Thermal Changes In The Torpedo Electric Organ Associated With Its Postsynaptic Potentials“. In: *Biochemical And Biophysical Research Communications* 215 (1995), S. 654–658.

- [11] J. M. Ritchie und R. D. Keynes. „The production and absorption of heat associated with electrical activity in nerve and electric organ“. In: *Quarterly Review of Biophysics* 18 (1985), S. 451–476.
- [12] K. Kaufmann. *Lipid Membrane*. Hrsg. von Caruaru Brazil. Caruaru Brazil, 1989.
- [13] K. Kaufmann. *Action Potentials*. Hrsg. von Caruaru Brazil. Caruaru Brazil, 1989.
- [14] T. Heimburg. „Mechanical aspects of membrane thermodynamics. Estimation of the mechanical properties of lipid membranes close to the chain melting transition from calorimetry“. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 1415 (1998), S. 147–162.
- [15] T. Heimburg und Andrew D. Jackson. „On soliton propagation in biomembranes and nerves“. In: *PNAS* 102 (2005), S. 9790–9795.
- [16] T. Heimburg. *Thermal Biophysics of Membranes*. Hrsg. von Wiley-VCH. Wiley-VCH Verlag Berlin, 2007.
- [17] S. S. L. Andersen, A. D. Jackson und T. Heimburg. „Towards a thermodynamic theory of nerve pulse propagation“. In: *Progress in Neurobiology* 88 (2009), S. 104–113.
- [18] J. Griesbauer, A. Wixforth und M. F. Schneider. „Wave Propagation in Lipid Monolayers“. In: *Biophysical Journal* 97 (2009), S. 2710–2716.
- [19] O. G. Mouritsen u. a. „Computer simulation of the main gel-fluid phase transition of lipid bilayers“. In: *J. Chem. Phys.* 79 (1983), S. 2027–2041.
- [20] A. Georgallas und D. A. Pink. „Phase Transitions in Monolayers of Saturated Lipids - Exact Results and Monte Carlo Simulations“. In: *J. Coll. Int. Sci.* 89 (1982), S. 107–116.
- [21] I. P. Sugar, T. E. Thompson und R. L. Billtonen. „Monte Carlo Simulation of Two-Component Bilayers: DMPC/DSPC Mixtures“. In: *Biophysical Journal* 76 (1999), S. 2099–2110.
- [22] M. Hennig u. a. „Dynamic patterns in a supported lipid bilayer driven by standing surfcae acoustic waves“. In: *Lab Chip* 9 (2009), S. 3050–3053.
- [23] J. Neumann u. a. „Transport, Separation, and Accumulation of Proteins on Supported Lipid Bilayers“. In: *Nano Lett.* 10 (2010), S. 2903–2908.
- [24] J. Lucassen. „Longitudinal Capillary Waves - Part 2 - Experiments“. In: *Trans. Faraday Soc.* 64 (1968), S. 2230–2235.
- [25] J. Lucassen. „Longitudianl Capillary Waves - Part 1 - Theorie“. In: *Trans. Faraday Soc.* 64 (1968), S. 2221–2229.

- [26] J. Lucassen und M. van den Tempel. „Longitudinal Waves on Visco-Elastic Surfaces“. In: *J. Coll. Int. Sci.* 41 (1972), S. 491–498.
- [27] G. L. Gaines. *Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces*. Hrsg. von Interscience Publishers Wiley & Sons. I. Prigogine, 1966.
- [28] G. Cevc. *Phospholipids Handbook*. Hrsg. von CRC Press. CRC Press, 1993.
- [29] L. D. Landau und E. M. Lifschitz. *Lehrbuch Der Theoretischen Physik - V - Statistische Physik*. Hrsg. von R. Lenk und E. Jäger. Verlag Harri Deutsch, 2008.
- [30] F. Schwabl. *Statistische Mechanik*. Hrsg. von F. Schwabl. Springer Verlag, 2006.
- [31] D. Steppich u. a. „Thermomechanic-electrical coupling in phospholipid monolayers near the critical point“. In: *Physical Review E* 81 (2010), S. 061123–1–061123–5.
- [32] J. W. Gibbs. „On the Equilibrium of Heterogeneous Substances“. In: *Transactions of the Connecticut Academy* 3 (1875-1878), 108–248 (1876), 343–524 (1878).
- [33] I. Langmuir. „Monolayers on Solids“. In: *J. Chem. Soc.* 1 (1940), S. 511–543.
- [34] I. Langmuir. „The mechanism of the surface phenomena of flotation“. In: *Trans. Faraday Soc.* 15 (1920), S. 62–74.
- [35] K. B. Blodgett. „Films Built by Depositing Successive Monomolecular Layers on a Solid Surface“. In: *J. Americ. Chem. Soc.* 57 (1935), S. 1007–1022.
- [36] L. Wilhelmy. „Ueber die Abhängigkeit der Capillaritäts-Constanten des Alkohols von Substanz und Gestalt des benetzten festen Körpers“. In: *Annalen der Physik* 195 (1863), S. 177–217.
- [37] O. Albrecht, H. Gruler und E. Sackmann. „Polymorphism of Phospholipid Monolayers“. In: *J. de Phys.* 39 (1978), S. 301–313.
- [38] J. F. Nagle. „Chain model theory of lipid monolayer transitions“. In: *J. Chem. Phys.* 63 (1975), S. 1255–1261.
- [39] N. R. Pallas und B. A. Pethica. „Liquid-Expanded to Liquid-Condensed Transitions in Lipid Monolayers at the Air/Water Interface“. In: *Langmuir* 1 (1985), S. 509–513.
- [40] K. J. Klopfer und T. K. Vanderlick. „Isotherms of Dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) Monolayers: Features Revealed and Feature Obscured“. In: *Journal of Colloid and Interface Science* 182 (1996), S. 220–229.
- [41] A. Fischer u. a. „On the nature of the lipid monolayer phase transition“. In: *J. Physique Lett.* 45 (1984), S. 785–791.

- [42] A. Blume. „A Comparartive Study Of The Phase Transitions Of Phospholipid Bilayers And Monolayers“. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 557 (1979), S. 32–44.
- [43] H. Beitinger u. a. „Surface potentials and electric dipole moments of ganglioside and phospholipid monolayer: contribution of the polar headgroup at the water/lipid interface“. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 984 (1989), S. 293–300.
- [44] V. Vogel und D. Möbius. „Local Surface Potentials and Electric Dipole Moments of Lipid Monolayers: Contributions of the Water/Lipid and the Lipid/Air Interfaces“. In: *Journal of Colloid and Interface Sience* 126 (1988), S. 408–420.
- [45] U. Peterson u. a. „Origin of membrane potential: Contribution of the phospholipid fatty acid chains“. In: *Chemistry and Physics of Lipids* 117 (2002), S. 19–27.
- [46] T. Shimojo und T. Ohnishi. „Studies on Membrane Model - I. surface Pressure and Surface Potential of Pure Phospholipid Monolayers“. In: *J. Biochem.* 61 (1967), S. 89–95.
- [47] D. F. Sears und J. H. Schulman. „Influence of Water Structures on the Surface Pressure, Surface Potential, and Area of Soap Monolayers of Lithium, Sodium, Potassium, and Calcium“. In: *J. Phys. Chem.* 68 (1964), S. 3529–3534.
- [48] H. Brockman. „Dipole potential of lipid membranes“. In: *Chemistry and Physics of Lipids* 73 (1994), S. 57–79.
- [49] M. Montal und P. Mueller. „Formation of Bimolecular Membranes from Lipid Monolayers and a Study of Their Electrical Properties“. In: *Proc. Nat. Acad. Sci.* 69 (1972), S. 3561–3566.
- [50] J. F. Nagle. „Theory of Lipid Monolayer and Bilayer Phase Transitions: Effect of Headgroup Interactions“. In: *J. Membrane Biol.* 27 (1976), S. 233–250.
- [51] R. C. MacDonald und S. A. Simon. „Lipid monolayer states and their relationships to bilayers“. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 (1987), S. 4089–4093.
- [52] H. Brockman. „Lipid monolayers: why use half a membrane to characterize protein-membrane interactions?“ In: *Curr. Op. Struct. Biol.* 9 (1999), S. 438–443.
- [53] R. Goetz und R. Lipowsky. „Computer simulations of bilayer membranes: Self-assembly and interfacial tension“. In: *Journal of Chemical Physics* 108 (1998), S. 7397–7409.

- [54] S. L. Duncan und R. G. Larson. „Comparing Experimental and Simulated Pressure-Area Isotherms for DPPC“. In: *Biophysical Journal* 94 (2008), S. 2965–2986.
- [55] C. M. Roland, M. J. Zuckermann und A. Georgallas. „Phase transitions in phospholipid monolayers at air-water interfaces“. In: *J. Chem. Phys.* 86 (1987), S. 5852–5856.
- [56] T. Heimburg und R. L. Biltone. „A Monte Carlo Simulation Study of Protein-Induced Heat Capacity Changes in Lipid-Induced Protein Clustering“. In: *Biophysical Journal* 70 (1996), S. 84–96.
- [57] A. E. Hac u. a. „Diffusion in Two-Component Lipid Membranes- A Fluorescence Correlation Spectroscopy and Monte Carlo Simulation Study“. In: *Biophysical Journal* 88 (2005), S. 317–333.
- [58] L. Boltzmann. *Entropie und Wahrscheinlichkeit: (1872-1905)*. Hrsg. von D. Flamm. Harri Deutsch, 2000.
- [59] H. L. Anderson. „Metropolis, Monte Carlo and the MANIAC“. In: *Los Alamos Science* 14 (1986), S. 96–108.
- [60] N. Metropolis u. a. „Equation of State Calculations by Fast Computing Machines“. In: *J. Chem. Phys.* 21 (1953), S. 1087–1092.
- [61] L. Cruzeiro-Hansson und O. G. Mouritsen. „Passive ion permeability of lipid membranes modelled via lipid-domain interfacial area“. In: *Biochemica et Biophysica Acta* 944 (1988), S. 63–72.
- [62] T. Heimburg. „Monte Carlo simulations of lipid bilayers and lipid protein interactions in the light of recent experiments“. In: *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 5 (2000), S. 224–231.
- [63] I. P. Sugar, R. L. Biltonen und N. Mitchard. „Monte Carlo simulation of membranes: phase transition of small unilamellar dipalmitoylphosphatidylcholine vesicles“. In: *Meth. Enzymol.* 240 (1994), S. 569–593.
- [64] R. Jerala, P. F. F. Almeida und R. L. Biltonen. „Simulation of the gel-fluid transition in a membrane composed of lipids with two connected acyl chains: application of a dimer-move step“. In: *Biophys. J.* 71 (1996), S. 609–615.
- [65] M. J. Janiak, D. M. Small und G. G. Shipley. „Temperature and Compositional Dependence of the Structure of Hydrated Dimyristoyl Lecithin“. In: *J. Biol. Chem.* 254 (1979), S. 6068–6078.
- [66] M. Seul, P. Eisenberger und H. M. McConnell. „X-ray diffraction by phospholipid monolayers on single-crystal silicon substrates“. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80 (1983), S. 5795–5797.

- [67] G. Wu u. a. „Interaction between Lipid Monolayers and Poloxamer 188: An X-Ray Reflectivity and Diffraction Study“. In: *Biophysical Journal* 89 (2005), S. 3159–3173.
- [68] H. M. McConnell, L. K. Tamm und R. M. Weis. „Periodic structures in lipid monolayer phase transitions“. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81 (1984), S. 3249–3252.
- [69] M. Flörsheimer. „Licht- und elektronenoptische, elektrische und thermodynamische Untersuchungen zur mikroskopischen Struktur sowie zur Keimbildung in ultradünnen Filmen“. Diss. Universität München, 1989.
- [70] C. W. McConlogue und C. W. Vanderlick. „A Close Look at Domain Formation in DPPC Monolayers“. In: *Langmuir* 13 (1997), S. 7158–7164.
- [71] P. Krüger und M. Lösche. „Molecular chirality and domain shapes in lipid monolayers on aqueous surfaces“. In: *Physical Review E* 62 (2000), S. 7031–7043.
- [72] M. Lösche und P. Krüger. *Morphology of Langmuir Monolayer Phases*. Hrsg. von K.R. Mecke und D. Stoyan. Springer-Verlag Berlin, 2002.
- [73] D. J. Benvegnu und H. M. McConnell. „Line Tension between Liquid Domains in Lipid Monolayers“. In: *J. Phys. Chem.* 96 (1992), S. 6820–6824.
- [74] R. M. Weis und H. M. McConnell. „Two-dimensional chiral crystals of phospholipid“. In: *Letters to Nature* 310 (1984), S. 47–49.
- [75] J. Neumann. „Sensorische und aktorische Anwendungen akustischer Oberflächenwellen“. Diss. Universität Augsburg, 2009.
- [76] E. Sackmann. „Supported Membranes: Scientific and Practical Applications“. In: *Science* 271 (1996), S. 43–48.
- [77] H. I. Petrache, S. Tristram-Nagle und J. F. Nagle. „Fluid phase structure of EPC and DMPC bilayers“. In: *Chem Phys. Lipids* 95 (1998), S. 83–94.
- [78] W. Rawicz u. a. „Effect of Chain Length and Unsaturation on Elasticity of Lipid Bilayers“. In: *Biophysical Journal* 79 (2000), S. 328–339.
- [79] H. I. Petrache, S. W. Dodd und M. F. Brown. „Area per Lipid and Acyl Length Distributions in Fluid Phosphatidylcholines Determined by ²H NMR Spectroscopy“. In: *Biophysical Journal* 79 (2000), S. 3172–3192.
- [80] S. Tristram-Nagle u. a. „Structure of Gel Phase DMPC Determined by X-Ray Diffraction“. In: *Biophysical Journal* 83 (2002), S. 3324–3335.
- [81] T.-H. Chou, I.-M. Chu und C.-H. Chang. „Interaction of pralitinaxel with DSPC in monolayers at the air/water interface at different temperatures“. In: *Coll. Surf. B* 25 (2002), S. 147–155.

- [82] L. D. Landau und E. M. Lifschitz. *Lehrbuch Der Theoretischen Physik - VI - Hydrodynamik*. Hrsg. von P. Ziesche und W. Weller. Verlag Harri Deutsch, 2007.
- [83] T. Frommelt. „Mischen und Sortieren mit SAW-Fluidik in Simulation und Experiment“. Diss. Universität Augsburg, 2007.
- [84] G. E. Crawford und J. C. Earnshaw. „Viscoelastic Relaxation of Bilayer Lipid Membranes“. In: *Biophys. J.* 52 (1987), S. 87–94.
- [85] R. S. Ghaskadvi, J. B. Ketterson und P. Dutta. „Nonlinear Shear Response and Anomalous Pressure Dependence of Viscosity in a Landmuir Monolayer“. In: *Langmuir* 13 (1997), S. 5137–5140.
- [86] V. G. Levich und V. S. Krylov. „Surface-Tension-Driven Phenomena“. In: *Annu. Rev. Fluid Mech.* 1 (1969), S. 293–316.
- [87] E. H. Lucassen-Reynders und J. Lucassen. „Properties of Capillary Waves“. In: *Advan. Colloid. Interface Sci.* 2 (1969), S. 347–395.
- [88] G. Karlström. „On the effective interaction between an ion and a hydrophobic particle in polar solvents. A step towards an understanding of the Hofmeister effect?“. In: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 5 (2003), S. 3238–3246.
- [89] C. Sendner u. a. „Interfacial Water at Hydrophobic and Hydrophilic Surfaces: Slip, Viscosity, and Diffusion“. In: *Langmuir* 25 (2009), S. 10768–10781.
- [90] B. A. Noskov, D. A. Alexandrov und R. Miller. „Dynamic Surface Elasticity of Micellar and Nonmicellar Solutions of Dodecyldimethyl Phosphine Oxide. Longitudinal Wave Study“. In: *J. Coll. Int. Sci.* 219 (1999), S. 250–259.
- [91] B. A. Noskov u. a. „Characterisation of adsorbed polymer film structure by dynamic surface tension and dilational elasticity“. In: *Colloids and Surfaces A* 156 (1999), S. 307–313.
- [92] J. Lucassen und M. van den Tempel. „Dynamic measurements of dilational properties of a liquid interface“. In: *Chem. Eng. Sci.* 27 (1972), S. 1283–1291.
- [93] V. Vogel und D. Möbius. „Resonance of Transverse Capillary and Longitudinal Waves as a Tool for Monolayer Investigations at the Air/Water Interface“. In: *Langmuir* 5 (1989), S. 129–133.
- [94] W. Budach und D. Möbius. „Detection of Longitudinal Waves in Resonance with Capillary Waves the the Air-Water Interface by Energy Transfer“. In: *Thin Solid Films* 178 (1989), S. 61–65.
- [95] K. Miyano und K. Tamada. „Capillary Wave Propagation on Water Covered with Inhomogeneous Monolayers: Liquid/Gas Coexistence Films“. In: *Langmuir* 8 (1992), S. 160–163.

- [96] K. Tamada und K. Miyano. „Capillary Wave Propagation on Water Covered with Polyamic Acid Monolayer Films“. In: *Jpn. J. Appl. Phys.* 33 (1994), S. 5012–5018.
- [97] M. Suzuki, D. Möbius und R. Ahuja. „Generation and Transmission of a Surface Pressure Impulse in Monolayers“. In: *Thin Solid Films* 138 (1986), S. 151–156.
- [98] U. Vierl u. a. „Solute Effects on the Colloidal and Phase Behavior of Lipid Bilayer Membranes: Ethanol-Dipalmitoylphosphatidylcholine Mixtures“. In: *Biophysical Journal* 67 (1994), S. 1067–1079.
- [99] M. Patra u. a. „Under the Influence of Alcohol: The Effect of Ethanol and Methanol on Lipid Bilayers“. In: *Biophysical Journal* 90 (2006), S. 1121–1135.
- [100] R. Reigada. „Influence of Chloroform in Liquid-Ordered and Liquid-Disordered Phases in Lipid Membranes“. In: *J. Phys. Chem. B* 115 (2011), S. 2527–2535.
- [101] D. Grigoriev u. a. „Effect of Monovalent Ions on the Monolayers Phase Behavior of the Charged Lipid DPPG“. In: *J. Phys. Chem. B* 103 (1999), S. 1013–1018.
- [102] E. Maltseva. „Model membrane interactions with ions and peptides at the air/water interface“. Diss. Universität Potsdam, 2005.
- [103] A. Lucero u. a. „Effect of Hydrocarbon Chain and pH on Structural and Topographical Characteristics of Phospholipid Monolayers“. In: *J. Phys. Chem. B* 112 (2008), S. 7651–7661.
- [104] R. Almog und D. S. Berns. „The Role of Polar Groups in the Interaction of Dipalmitoyl Phosphatidylcholine with Chlorophyll a in Monolayers“. In: *J. Coll. Int. Sci.* 81 (1980), S. 332–340.
- [105] J. R. Saylor. „The fate of soluble and insoluble surfactant monolayers subjected to drop impacts“. In: *Experiments in Fluids* 34 (2003), S. 540–547.
- [106] P. Grabitz, V. P. Ivanova und T. Heimburg. „Relaxation Kinetics of Lipid Membranes and Its Relation to the Heat Capacity“. In: *Biophysical Journal* 82 (2002), S. 299–309.
- [107] M. Schiewek und A. Blume. „Pressure jump relaxation investigations of lipid membranes using FTIR spectroscopy“. In: *Eur. Biophys. J.* 38 (2009), S. 219–228.
- [108] G. Kretzschmar u. a. „Characterisation of phospholipid layers at liquid interfaces. 3. Relaxation of spreading phospholipid monolayers under harmonic area changes“. In: *Colloids and Surfaces A* 114 (1996), S. 277–285.

- [109] J. Krägel u. a. „Surface viscoelasticity of phospholipid monolayers at the air/water interface“. In: *Colloid Polym. Sci.* 274 (1996), S. 1183–1187.
- [110] T. Parasassi u. a. „Quantitation of lipid phases in phospholipid vesicles by the generalized polariztion of Laurdan fluorescence“. In: *Biophys. J.* 60 (1991), S. 179–189.
- [111] H. Träuble u. a. „Electrostatic Interactions At Charged Lipid Membranes. I. Effects Of pH And Univalent Cations On Membrane Structure“. In: *Biophysical Chemistry* 4 (1976), S. 319–342.
- [112] National Research Council (USA). *International Critical Tables of Numerical Data, Physics, Chemistry and Technology*. Hrsg. von Clarence J. West. McGraw-Hill Book Company, 1933.
- [113] B. Alberts u. a. *Molecular Biology Of The Cell (Fourth Edition)*. Hrsg. von Garland Science. Garland Science, 2002.
- [114] R. S. Cantor. „Lateral Pressure in Cell Membranes: A Mechanism for Modulation of Protein Function“. In: *J. Phys. Chem. B* 101 (1997), S. 1723–1725.
- [115] N. Noriyuki und K. Kurihara. „Effect of Odorants on Lipid Monolayers from Bovine Olfactory Epithelium“. In: *Nature* 236 (1972), S. 402–404.
- [116] W. Appelt. *Oberflächenpotential und Thermodynamik von Lipid-Monolagen*. Bachelorarbeit. Universität Augsburg, 2009.
- [117] A. Noblet, H. Ridelaire und G. Sylin. „Measurement of surface potentials“. In: *J. Phys. E.* 17 (1984), S. 234–239.
- [118] I. R. Peterson. „Kelvin probe liquid-surface potential sensor“. In: *Review of Scientific Instruments* 70 (1999), S. 3418–3424.
- [119] M. A. Noras. „AC-Feedback Electrostatic Voltmeter Operation“. In: *Trek Application Note* 0803/MAN Rev. 0b (2003), S. 1–4.

Danksagung

Schließlich möchte ich mich noch bei allen bedanken, die mir in irgendeiner Weise bei dieser Arbeit geholfen haben, mich unterstützt haben oder mich einfach nur begleitet und mir zugehört haben.

Zunächst gilt mein Dank Prof. Achim Wixforth und Prof. Matthias F. S. Schneider, die mir die Möglichkeit gaben im Bereich der Biophysik zu arbeiten. Beide standen mir stets mit offenem Ohr freundlich gegenüber, ob in persönlicher oder fachlicher Hinsicht, und ließen mir immer alle Freiheiten meinen Ideen theoretisch oder experimentell ohne Beschränkungen nachzugehen, ob in Augsburg oder in Boston. Darüberhinaus bedanke ich mich bei Prof. Alfred Blume für die Zweitbegutachtung meiner Arbeit und seiner Unterstützung mir gegenüber. Daneben möchte ich Prof. Roland Netz für die Erstellung des Drittgutachtens für diese Arbeit danken.

Allen Angestellten und Kollegen am Lehrstuhl für Experimentalphysik I möchte ich für ein nahezu perfektes Arbeitsklima und die stets gute Stimmung danken. Im speziellen möchte ich mich bei F. Cevik, A. Hupfer, S. Lieber und S. Spörhase danken, ohne deren technische und bürokratische Unterstützung so manche Arbeit viel schwerer fallen würde. Meinen Mitstreitern und Bürokollegen danke ich für die ständige Bereitschaft zur Diskussion, zum Gespräch und zum gute Laune verbreiten. Im speziellen S. Braunmüller, für die Beratung in allen chemischen Dingen, C. Leirer, für die Hilfe zu Beginn meiner Arbeit, D. Steppich, für seine Filmwaageneinweisung und Kommentierung seiner Umwelt, und S. Nuschele, für den philosophischen Touch.

J. Neumann möchte ich für die vielen Diskussionen und Hilfen danken. Außerdem stellte er mir, zusammen mit M. Hennig, alle Daten und Details ihres Experimentes zur Verfügung.

An dieser Stelle gilt außerdem mein Dank F. Grundfeld, der mir so einige Details der Filmwaagenteknik beibrachte und, meiner Meinung nach, die besten Filmwaagen und Drucksensoren erdacht hat.

Nicht zu vergessen, gilt mein Dank auch K. Kaufmann. Ob in Diskussionen, Streitgesprächen oder beim gemeinsamen Musik machen, war und ist er eine Quelle der

Inspiration für mich und bringt mich stets dazu alles so kritisch es nur geht zu hinterfragen und die entsprechenden Fragen auch ohne Gnade zu stellen.

Speziell gilt mein Dank und meine Freundschaft Stefan Bössinger. Ob als Mitbewohner oder Mitarbeiter oder Kollege oder als Freund haben wir sicher eine außergewöhnliche Zeit in Boston verbracht. Seine ganz „andere“ Weltsicht gab mir Verständnis für so manche Dinge und hat mich selbst vorangebracht und offener gemacht.

Natürlich danke ich noch allen Kollegen und Freunden in Boston an dieser Stelle. Besonders sind das Elbara, Shirkant und David. Außerdem danke ich meinen Musikkollegen in Augsburg für ihre musische Unterstützung. Obwohl ich lange Zeit in Boston war und nicht mit musizieren konnte, haben Schüli, Stuff, Julia und Lothar die Musik aufrechterhalten und mich nach meiner Rückkunft mit offenen Armen und offenem Bier empfangen.

Zuletzt möchte ich mich vor allem bei den Personen bedanken, die das alles wirklich erst möglich machten. Zuerst ist das meine Freundin Anja. Obwohl ich mein Schpatzerl erst viel zu spät während meiner Doktorarbeitszeit kennengelernt hab, schafft sie es immer und immer wieder mich zu motivieren und mir meine Ängste zu nehmen, gibt mir unendlich viel Liebe und Zuneigung, glaubt fest an mich und macht mir klar, warum ich sie so liebe. Dann ist da natürlich meine Schwester Johanna, die, mittlerweile zusammen mit ihrem Mann Hubert, eine persönliche, ratgebende Instanz ist, mir Zuversicht gibt und mir mein ganzes Leben lang immer zur Seite stand. Zuletzt sind es meinen Eltern denen mein Dank gilt. Denn ohne ihren Glauben an mich und ihr Vertrauen in mich, wäre mein Leben nicht das was es jetzt ist. Sie machen mir immer vor, was es heisst zu leben, zu lieben und glücklich zu sein.

Lebenslauf

Name: Josef Georg Maximilian Griesbauer
Geburtsdatum: 20.07.1983
Geburtsort: Kempten (Allgäu)
Familienstand: ledig
Adresse: Universität Augsburg
86135 Augsburg (Deutschland)

Schulbildung:

09/1989 - 09/1993 Grundschole Oy-Mittelberg
09/1994 - 05/2002 Allgäu Gymnasium Kempten

Wehrdienst/Zivildienst:

09/2002 - 06/2003 Zivildienst im Krankenhaus St. Vinzenz in Pfronten

Studium:

10/2003 - 02/2008 Studium der Physik an der Universität Augsburg
(Nebenfach: Mathematik/Informatik)
Studium der Mathematik an der Universität Augsburg
(Nebenfach: Physik)
10/2005 Vordiplom in Physik
04/2006-04/2008 Werkstudent der *OSRAM AG* in Augsburg
10/2006 Vordiplom in Mathematik
04/2007-02/2008 Diplomarbeit am Lehrstuhl für Experimentalphysik IV
der Universität Augsburg zum Thema: „Kombinatorik
von NIG/YIG/BIG-Gradienten und Untersuchung und
Simulation oszillatorischer Effekte an YIG-Puffersystemen „
seit 05/2008 Wissenschaftlicher Angestellter am Lehrstuhl für
Experimentalphysik I der Universität Augsburg
09/2009-12/2010 Forschungsaufenthalt an der Boston University
in den USA